



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA HUMANA

“EFICACIA ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Chenopodium quinoa willd* “QUINUA” SOBRE LA CEPA de *Staphylococcus aureus*
ESTUDIO IN VITRO.”

TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADEMICO DE:

MEDICO CIRUJANO

AUTORA:

María Elena, Rivas Leguía

ASESORES:

Mg. Marco, Alfaro Angulo

Dr. Santiago, Benites Castillo

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

ENFERMEDADES INFECCIOSAS

TRUJILLO - PERÚ

2016

PAGINA DEL JURADO

EFICACIA ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Chenopodium quinoa* willd “QUINUA” SOBRE LA CEPA DE *Staphylococcus aureus*, ESTUDIO IN VITRO.



.....
Mg. M.C. RICI ELIZABETH PONCE DE LOPEZ
Directora del Hospital Distrital El Porvenir-Santa Isabel –Trujillo.
PRESIDENTE DEL JURADO

.....
Mg. M.C. FREDY WALTER CABRERA DÍAZ
Director del Hospital I Albrecht .Es salud.
Coordinador Adjunto Medicina Familiar y Comunitaria de la UCV.
SECRETARIO DEL JURADO

.....
Mg. M.C. MARCO ANTONIO ALFARO ANGÚLO
Médico Epidemiólogo. Jefe de la Oficina de Inteligencia Sanitaria
Red Asistencial La Libertad Tipo A Distrito La Esperanza-Trujillo.
VOCAL DEL JURADO

FECHA DE SUSTENTACIÓN Y APROBACIÓN: 13 de Diciembre del 2016.

DEDICATORIA

A DIOS

Quien, es la razón de mi existencia; por ser su Instrumento para el que fui creada en un mundo de adversidades.

A MI MADRE

Modelo de perseverancia y ejemplo de Mujer virtuosa; con un coraje y amor infinito que sembró en sus hijos.

A MIS HIJOS

Dedico a Julio César y José Luis quienes son el motor para continuar con mi anhelo que fue un sueño y hoy es una realidad.

A MI ESPOSO

Por su amor incondicional y mucha paciencia en todo momento; quien supo entenderme cuando más lo necesitaba.

RIVAS LEGUÍA MARIA ELENA

AGRADECIMIENTO

Al Dr. **Marco Antonio, Alfaro Angúlo** por su dedicación constante y predisposición en todo momento, para la culminación con éxito la presente tesis.

AL Dr. **Tony Steve Hurtado Escamilo**, por su apoyo incondicional; muy conocedor e identificado con la investigación.

Al Dr. **Segundo Guillermo Ruiz Reyes**, Docente de la Cátedra de Farmacognosia, UNT; quien contribuyo con su experiencia en la etapa del procesado del extracto.

Al Dr. **Santiago Benites Castillo**, quien con su entusiasmo y apoyo por la investigación se hizo realidad la culminación del mismo.

A mi alma máter y docentes de la Escuela de Medicina de la **UCV** con su orientación y asesoría para mi formación Profesional.

RIVAS LEGUÍA MARIA ELENA

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, **Rivas Leguía María Elena**, estudiante de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas, Escuela de Medicina, identificada con DNI N° 31184406; con la tesis titulada: **“EFICACIA ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Chenopodium quinoa* Willd “Quinoa” SOBRE LA CEPA DE *Staphylococcus aureus*, ESTUDIO IN VITRO.”**

Declaro bajo responsabilidad que:

- 1) Que soy autora de esta investigación
- 2) He respetado las fuentes con sus referencias respectivas, así como las normas internacionales de citas. Por tanto, la tesis no fue copiada total ni parcialmente.
- 3) La tesis no ha sido publicada, ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional y menos auto plagiado.
- 4) Los datos de los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados y por tanto los resultados que se muestran en la tesis será un aporte a la investigación.

Si se identifica plagio, auto plagio, piratería o falsificación; asumo las responsabilidades que se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, 13 de Diciembre del 2016.

RIVAS LEGUÍA MARIA ELENA

DNI: 31184406

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento con el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: **“EFICACIA ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Chenopodium quinoa* Willd “Quinoa” SOBRE LA CEPA DE *Staphylococcus aureus*, ESTUDIO IN VITRO”**, el mismo que someto a vuestra consideración y cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

El estudio de investigación contiene siete capítulos: el Capítulo I, contienen la problemática, importancia del estudio, justificación; se incluye el marco empírico, conceptual y la hipótesis; el objetivo general y objetivos específicos.

En el Capítulo II, contiene el Método, aquí se desarrolló las variables en estudio, la operacionalización de las variables y tipos de estudio; así como diseño, población y muestra y el instrumento de recolección de datos.

En el capítulo III, están los resultados por cada objetivo específico planteado con sus respectivos cuadros estadísticos y tablas respectivas.

En el capítulo IV, contienen la discusión y contrastación con estudios similares.

En el capítulo V, VI, se muestra las conclusiones y las recomendaciones a la que se ha llegado; los cuales son un aporte a la línea de investigación realizada.

En el capítulo VII, se muestra las referencias bibliográficas nacionales e internacionales, páginas web, tesis doctorales, y otros. Así como informaciones de consulta que no fueron citadas.

RIVAS LEGUÍA MARIA ELENA

INDICE

	Pág.
Página del Juradoii
Dedicatoria.....	iii
Agradecimiento	iv
Declaratoria de autenticidadv
Presentaciónvi
Índice	vii
RESUMENviii
ABSTRACTix
I. INTRODUCCIÓN	01
1.1. Problema.....	15
1.2. Hipótesis.....	15
1.3. Objetivos.....	15
II. MÉTODO	15
2.1. Variables	15
2.2. Operacionalización de variables.....	17
2.3. Metodología.....	18
2.4. Tipos de estudio	18
2.5. Diseño	18
2.6. Población y muestra	19
2.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	19
2.8. Métodos de análisis de datos	22
2.9. Aspectos éticos.....	23
III. RESULTADOS	24
IV. DISCUSIÓN	27
V. CONCLUSIONES	30
VI. RECOMENDACIONES	31
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	32
ANEXOS	
Anexo 01: Instrumento de recolección de datos.....	41
Anexo 02: Validación del instrumento	43
Anexo 04: Matriz de consistencia	44

RESUMEN

El **OBJETIVO** fue evaluar la eficacia antibacteriana del extracto de *Chenopodium quinoa Willd* “Quinua” sobre la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, estudio in vitro. **MATERIAL Y MÉTODOS:** Estudio experimental puro, entre Agosto del 2014 y Julio del 2015. Se usó la semilla nativa amarga de la variedad roja del departamento de Puno por su contenido en saponina obtenido por el método afrosimétrico. El cual se procesó por el método de maceración hidro-etanólico, sin descascarrillado solo libre de impurezas; obteniéndose el extracto acuoso, diluyéndose a diferentes concentraciones con suero fisiológico (100%, 90%, 80%, 70%, y 60%); evaluadas in vitro, su eficacia antibacteriana por el método de difusión en disco; cuyo control positivo fue la Oxacilina y negativo el suero fisiológico; a cada dilución se realizaron 36 repeticiones. **RESULTADOS:** De 216 muestras analizadas; todas las diluciones mostraron crecimiento del halo con una media promedio de 11.33, 9.72, 4.53, 2.28 Y 0.69 mm. La dilución que mejor se comportó fue la del 100%, con halos de inhibición de 10 a 15 mm. Y con una eficacia antibacteriana solo del 11.1%; pues solo en 4 repeticiones hubo halos de inhibición de 13 mm. o más respecto al patrón Oxacilina que tuvo en todas las repeticiones una eficacia de 100%, con halos promedios de 47.78 mm. **CONCLUSIÓN,** todos los extractos puros o diluidos no presentaron eficacia antibacteriana al no superar valores de 13 mm; según la norma CLSI. Sin embargo sí presentaron actividad antibacteriana. Los halos de inhibición fueron directamente proporcionales a las concentraciones del extracto y con una significancia efectivo de $p < 0,05$.

Palabras clave: Eficacia antibacteriana, extracto de *Chenopodium quinoa willd*, Halo de inhibición, tratamiento antibacteriano, *staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

The **OBJECTIVE** was to evaluate the antibacterial efficacy of *Chenopodium quinoa* Willd "Quinoa" extract on *Staphylococcus aureus* strain ATCC25923, an in vitro study. **MATERIAL AND METHODS:** A pure experimental study, from August 2014 to July 2015. Bitter native seed of the red variety of the department of Puno was used for its saponin content obtained by the afrosimetric method. Which was processed by the hydro-ethanolic maceration method, Without dehulling only free of impurities; obtaining the aqueous extract, being diluted to different concentrations with physiological serum (100%, 90%, 80%, 70%, and 60%); To evaluate in vitro their antibacterial efficacy by the disc diffusion method; Whose positive control was Oxacillin and negative the physiological serum; At each dilution 36 replicates were performed. **RESULTS:** Of 216 samples analyzed; All dilutions showed growth of the halo with an average of 11.33, 9.72, 4.53, 2.28 and 0.69 mm. The dilution that best behaved was that of 100%, with inhibition halos of 10 to 15mm. And with an antibacterial efficacy of only 11.1%; Since only in 4 repetitions there were halos of inhibition of 13 mm. Or more with respect to the Oxacillin standard, which tube in all replicates had an efficiency of 100%, with mean halos of 47.78 mm. **CONCLUSION,** all pure or diluted extracts did not present antibacterial efficacy when they did not exceed values of 13mm; According to the CLSI standard. However, they had antibacterial activity. Inhibition halos were directly proportional to extract concentrations and with an effective significance of $p < 0.05$.

Key words: Antibacterial efficacy, *Chenopodium quinoa* willd extract, Halo inhibition, antibacterial treatment, *staphylococcus aureus*.

1.- INTRODUCCIÓN

Las plantas fueron hace muchos años un recurso al alcance de la humanidad para alimentarse y cura de las enfermedades. Gran parte de las medicinas del reino vegetal que ahora usamos no fueron descubiertas por las ciencias de las sociedades modernas, sino por pruebas de ensayo y error practicadas durante milenios, por diferentes culturas (1).

El uso de las plantas en medicina tiene una historia renombrada y honorable, ya que en determinados momentos todos los medicamentos se obtuvieron de fuentes naturales. Este evento dio lugar al establecimiento de una relación muy cercana y productiva entre el hombre y su medio de Fito diversidad. “Es así que los primeros herbolarios datan de la época de los asirios, los babilonios y los fenicios y constituyen una recopilación de los conocimientos de esa época sobre las propiedades curativas de las plantas”; comenzando la historia de la fitoterapia desde el año 3.000 a.C. hasta nuestros días. En los que destacan numerosas referencias y escritos como el famoso papiro egipcio de Ebers (cerca de 1.500 a.C.) que contiene muchas preparaciones medicamentosas a base de vegetales (1)

Según Vidaurre de la Riva (2) la ciencia moderna está encontrando moléculas novedosas que combaten a determinadas patologías y con ello acortando el tiempo en búsqueda de recursos vegetales eficaces; reduciendo la inversión económica. Mientras que “la medicina tradicional es reconocida por sus cuantiosos aportes de conocimientos tradicionales”. Sin embargo, hay intereses particulares debido a la obtención de recursos económico con la ciencia moderna, cuya distribución de beneficios con la medicina tradicional no es con equidad. En la actualidad la evidencia refiere “que hay entre 35,000 y 70,000 especies de plantas de uso medicinal en el mundo”. Opina el autor que la Organización Mundial de la Salud por su parte ha identificado que el 80% de la población mundial abordan sus problemas de salud con el uso de plantas medicinales los que son más accesibles.

Se conoce de manera parcial, la composición química de las sustancias antimicrobianas de las plantas y ante la creciente multirresistencia bacteriana a los

antibióticos de origen sintético; urge la necesidad de conseguir alternativas eficaces para controlar las infecciones. Las plantas son una valiosa fuente para investigar nuevas sustancias activas con propiedades antibacterianas. Sin embargo esta evidencia, nos indica que el 25 a 50% de los productos farmacéuticos actuales derivan de plantas; ninguno se utiliza como agente antimicrobiano (2).

El Perú, cuenta con una diversidad de flora, el 65% de sus recursos naturales son plantas, existiendo “25,000 especies únicas originarias y cerca de 1,400 con propiedades medicinales”. Las plantas medicinales en nuestro país, son un importante aporte a la industria farmacológica a nivel mundial; descubriéndose nuevos usos y aplicaciones por sus principios activos que contienen, pues el mantenimiento de su Fito diversidad, así como su etnofarmacología es estratégica para la seguridad alimentaria del país y del mundo. Declarándose bajo decreto ley a “las especies silvestres medicinales como patrimonio nacional; así como su fomento, preservación, cultivo, industrialización, comercialización y consumo” (3).

Por otro lado, la OMS (4) reporta que las cepas microbianas están en constante evolución y cada vez se presentan condiciones que favorecen su resistencia; a esto se añade la no adherencia al medicamento antimicrobiano; que acelera ese fenómeno natural de control de las infecciones y la resistencia antimicrobiana; lo que da lugar a enfermedades infecciosas difíciles de tratar y con el riesgo de fallecer (4).

Mientras que Keskin (5), demostró, a través del uso de diferentes extractos naturales de metanol, acetato de etilo y acetona; la actividad antibacteriana a través de la formación de halos de inhibición en estudios in vitro. Para lo cual usaron 12 especies de plantas entre ellos: *Capsicum annuum* (pimiento rojo) (fruta), *Organum onites L.* (tomillo), *Coriandrum sativum* (culantro), *Zingiber officinale* (jengibre) (raíz), *Cuminum cyminum* (Comino), *Eugenia caryophyllata* (clavo)... Y aplicaron a 8 bacterias y 2 hongos entre ellos: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus megaterium*, *Klebsiella pneumoniae* *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloaca*, *Corynebacterium xerosis*, y hongos, *Rhodotorula rubra* *Kluyveromyces marxianus*. Logrando halos de inhibición

de 7 a 24 mm. Dichos antimicrobianos de los extractos, podrían conservar los alimentos preservándolos al reducir la tasa de crecimiento. Como resultado de estos, los consumidores tienen preferencia e interés por utilizar productos naturales; especialmente extractos de plantas, aceites y esencias, evitando el uso de preservantes en la conservación de los alimentos; porque producen cefalea, anorexia, náuseas, debilidad, retardo mental, convulsiones y cáncer.

En cuanto al uso de extractos naturales y su actividad antibacteriana; actualmente está en boga y más aún el uso de semillas milenarias y oriundas bien reconocidas en las prácticas ancestrales de los pueblos andinos, como es el *Chenopodium quínoa Willd*; preservados en su estado natural y “el uso de prácticas ancestrales de vida en armonía con la naturaleza”. Declarando la Asamblea General de las Naciones Unidas para la Alimentación y la agricultura (FAO); como el "Año Internacional de la Quinoa al 2013; reconociendo como alimento para las generaciones presentes y futuro “en la erradicación del hambre, la desnutrición y la pobreza”. Continuar con las investigaciones en beneficio de la salud, dicha semilla ha trascendido fronteras incluso el uso en los viajes espaciales como nutriente integral. (6).

Según Bojanic (7) uno de sus metabolitos secundarios presentes en el pericarpio de la Quinoa, es la saponina que le da actividad antimicrobiana; dichos metabolitos son sustancias orgánicas de origen mixto, como los glucósidos triterpenoides (reacción ligeramente ácida) y esteroides derivados de perhidro 1,2 ciclo pentano fenantreno. Las partículas presentes en el pericarpio de los granos sin lavar, también actúan como factor anti nutricional. Otros metabolitos de la Quinoa como los alcaloides, taninos, oxalatos, carotenos, antocianinas, betalaínas; con la misma actividad antimicrobiana. Las saponinas extraídas de la quinoa amarga, son utilizadas en la industria farmacéutica, induce cambios en la permeabilidad intestinal; actuando como cofactor en la absorción de medicinas y en los efectos hipocolesterolémicos. Así como antibiótico y para el control de los hongos”. Por su toxicidad, se ha investigado su acción potente como insecticida natural sin generar efectos adversos en el humano o animales mayores; y con un potencial para programas de control de plagas. Con respecto a los trabajos previos de

investigaciones relacionados con la presente tesis se encontró.

Miranda et al. (8) (Chile, 2014), cuyo objetivo fue evaluar el potencial antimicrobiano y contenido fitoquímico de seis fuentes de semilla de la quinua *Chenopodium quinoa Willd "quinua"*; cultivadas en tres zonas geográficas. El método de cultivo fue de difusión en disco. Previamente molidas, 10 g se mezclaron en 50 cc de etanol absoluto (99%) dejando 24 horas en oscuridad y a temperatura ambiente en agitador orbital a 200 rpm previa al filtrado y centrifugado a 500 rpm durante 10 minutos. Luego fueron testeadas para determinar la actividad antimicrobiana frente a 2 bacterias *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, utilizando la técnica de difusión en disco y como control positivo se usó 100 mg/ml de amoxicilina. Los resultados para *Staphylococcus aureus*, cuyo halo de inhibición fue de 8.5 a 15.0 mm y para *E. coli* de 8.3 a 14.8 mm. Siendo el primero más sensible a la actividad antimicrobiana. En conclusión los 6 tipos de quinua estudiados, tuvieron actividad inhibidora frente a bacterias Gram positivas y negativas; así mismo la semilla del norte Cancosa tubo la más alta acción antimicrobiana por su contenido en flavonoides. Con una diferencia estadística significativa de $p < 0,05$.

Guevara et al (9) (Ecuador, 2013), tuvieron como objetivo determinar la actividad exfoliante de la crema cosmética que contiene saponinas triterpénicas de la quinua, fue método experimental; utilizando el agua del lavado de la quinua, que es un subproducto de desecho amargo con contenido de saponina usado en la crema cosmética. Pasó por un "control de calidad y estabilidad acelerada mediante envejecimiento del producto en cámara de maduración" usando métodos fisicoquímicos, de viscosidad, de pH y espectrofotométricos (determina el tiempo de vida útil). Encontrándose concentraciones de saponina en la crema, respaldados por el análisis microbiológico empleando placas Petri film y cámara de flujo laminar. En conclusión, la crema tubo una concentración de $40,5 \pm 4,0 \%$; en saponina y en el estudio microbiológico de aerobios mesófilos, levaduras y hongos; hubo ausencia total de unidades formadoras de colonia por gramo (UFC/gr). Por lo tanto este metabolito actúa como detergentes, excipiente en la crema, como agente exfoliativo para limpieza facial. El análisis de varianza para las concentraciones de

las saponinas en la crema, cuyo Test de Tukey Alfa fue de 0,05 DMS (diferencia mínima significativa). El valor estadístico de significancia fue de $p \leq 0,05$.

Melgarejo et al. (10) (Bolivia, 2013), cuyo objetivo fue determinar la composición de diez cultivares de *Chenopodium quinoa Willd* “quinua”, demostraron que contiene cantidades relativamente altas de grasa en comparación con otros cereales. También es rico en vitamina E, que protege a sus lípidos de la oxidación, así como contiene aminoácidos esenciales; la cantidad de tocoferol en la quinua es mayor que la de trigo. En conclusión las semillas de quinua tienen actividad antioxidantes y antibacteriano presentes de forma natural en los productos crudos. Además de tener el efecto protector sobre las grasas poliinsaturadas y la vitamina E actúa como un limpiador de radicales libres, terminando la reacción radical en la auto-oxidación y acción antibacteriana.

Korcan et al. (11) (Turquía, 2013), evaluaron la actividad antibacteriana, capacidad antioxidante y protectora de ADN del efecto del extracto etanólico de la hoja de *Chenopodium álbum*, contra estrés oxidativo inducido por agua oxigenada en ambos leucocitos mononucleares humanos, in vitro. El método que usaron fue la difusión en disco en el que usaron plantas desecadas en sombra, se pulverizó y se sometió 10 g del material vegetal en 100 ml de etanol mediante el uso de Soxhlet. Determinación de la actividad antibacteriana de *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Micrococcus luteus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudónimas aeruginosa*, *Bacillus seres*. Utilizaron como control, la amoxicilina más ácido clavulánico, ampicilina, teicoplanina, tetraciclina, Ofloxacina, y cefotetán. La actividad antibacteriana más sensible se registró en *Bacillus subtilis* con un halo de inhibición de 13 mm. Finalmente concluyeron que el *Chenopodium álbum* tiene actividades protectoras potentes; por lo que puede ser de gran valor medicinal. Informaron diferencias significativa con un ($p < 0,05$).

Hassan et al. (12) (EE. UU. 2010), Evaluaron la actividad hemolítica y antimicrobianas del extracto de GM saponina ricos, preparado por calentamiento a reflujo de 25 g de GM con 250 ml de Etanol (EOH) / Agua (1: 1, v / v) durante 3

horas, después se filtraron y se destilaron con Etanol a 50 ° C. El método que se uso fue dilución en pocillo. El extracto se sometió a dilución con igual volumen de MeOH la obtención de extracto crudo de saponina ricos en GM con $4,8 \pm 0,6\%$ de MS de GM que se purificó por la técnica de cromatografía de fase inversa (RP-HPLC), cuya separación de los componentes es más lenta, diluyendo 20%, 60% y 100% fracciones MeOH con $2,04 \pm 0,32\%$, $0,91 \pm 0,16\%$ y $1,55 \pm 0,15\%$ de materia seca del extracto de GM saponina ricos en crudo, respectivamente. La purificación, adicional de 100% de fracción de MeOH utilizo la técnica de cromatografía de fase normal (NP-HPLC), que separa los componentes de una mezcla, diluyendo cuatro sub-fracciones de los picos a los 16, 39, 44 y 46 minuto. Usando placas de 96 pocillos en ocho concentraciones. Concluyendo que sólo el 100% de la fracción de MeOH y su pico sub-fracción 16 min. exhibieron actividades tanto hemolíticas y antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* y mientras que las fracciones de 20% y 60% de MeOH estimuló el Crecimiento de *Lactobacillus* spp.

Tenorio et al. (13) (Bolivia, 2010), evaluaron la actividad biocontroladora del extracto concentrado de saponina aislado del pericarpio (cáscara) del *Chenopodium quínoa Willd*, el estudio fue experimental básico en el que se observó al hongo fitopatógeno con disminución en su velocidad de crecimiento durante 12 días; cuyo control positivo fue el fungicida sintético el Sistane a 1ml/L. Concluyeron que el extracto de Quínoa presentó una inhibición de 42 % sobre *Aspergillus flavus*, en los primeros 4 días del experimento.

Elizalde et al. (14) (Colombia, 2009), reportaron que en su composición el *Chenopodium quínoa Willd* sin desaponificar contiene saponinas que son glucósidos que le dan el sabor amargo; cuyas propiedades son la producción de espumas en solventes líquidos, su acción hemolítica, su toxicidad en los peces y formando complejos con el colesterol. Sin ser absorbidas en el intestino, afectando en la absorción de Zinc y el Hierro; es por ello que antes de ser consumidas deben ser desaponificadas. Sin embargo tienen efectos benéficos para la salud con múltiples actividades biológicas como antimicótico, antiviral, anticancerígeno, antibacteriana, hipocolesterolemia, hipoglicemia, antitrombótica, diurética,

antiinflamatoria y molusquicida. Y por hidrólisis se obtienen las sapogeninas esteroideas; la industria farmacéutica tiene interés para usar como precursores en la síntesis de hormonas (corticoides).

Toribio et al. (15) (Argentina, 2006), evaluaron la actividad antimicrobiana luego de una selección primaria de 80 extractos vegetales metanólicos de plantas silvestres recolectadas de diferentes áreas geográficas de la provincia de La Pampa, en el que incluyeron al *Chenopodium quínoa Willd*; con el objetivo de determinar nuevas fuentes de agentes antimicrobianos. Se utilizó el método de difusión en disco. Macerando 20 g de la parte aérea desecadas de cada planta en 100 ml de etanol /agua (1:1, v/v) durante 24 horas a temperatura ambiente. El residuo menstruo fue extraído con metanol y secado con rota vapor a 70 °C. Se re suspendieron en 5 ml de agua destilada estéril disponible para el ensayos. El método usado fue difusión en disco, según el método de Kirby Bauer, por pozos en el medio de cultivo agar Müller - Hinton solidificado. Es decir se puso 60 µl de la solución del extracto procesado en cada pozo y usando como control discos de Azitromicina, luego de incubarlos en las placas Petri a 37°C y evaluados a las 24 horas. En conclusión se registraron el 41,25% de las especies vegetales en estudio presentaron halos de inhibición frente a *Staphylococcus aureus*. (ATCC25923).

Zegarra (16) (Perú, 2011), “evaluó la actividad deterrente y acaricida de extractos de variedades de quinuas amargas y Tarwi; así como de aceites esenciales de molle y muña”. Caracterizándolos químicamente a los extractos y aceites esenciales, los cuales obtuvieron actividad antimicrobiana frente a insectos y ácaros; manteniendo tendencias positivas entre eficacia y concentración. Concluyendo más eficacia a mayores concentraciones con la variedad de *Chenopodium quínoa* A Sacasa y A Maranganí; del mismo modo la variedad de quínoa Marko mostró aumento de eficacia incluso en concentraciones de 5-10%. Mientras que la quínoa Zolapozada, aumentó su eficacia al superar las concentraciones del 5% al 10%. Finalmente, el valor estadístico de significancia fue de $p < 0,05$.

Repo de Carrasco (17) (Perú, 2008), refiere que la *Chenopodium quínoa Willd*; posee múltiples usos terapéuticos, en la medicina tradicional como antidermatosico, antiinflamatorio y analgésico. Además estudió los efectos antioxidante, inmunomodulador, antimicrobiano, hipoglucemiante e hipotensor. La actividad antioxidante varió de 6% a 86% y tubo una moderada correlación estadísticamente significativa ($r = 0,53$; $p < 0,05$). Aunque la quínoa no tuvo los más altos niveles de fenólicos totales; también exhibió la mayor actividad antioxidante entre todos los cereales andinos (86%).

Mujica et al. (18) el *Chenopodium quínoa Willdenow*, quinóa es una semilla oriunda del Perú, de la familia Chenopodiaceae, subfamilia Chenopodiaceae de las amarantáceas. Con un gran potencial para las demandas agronómicas y su alto potencial nutritivo además de adaptarse a condiciones adversas o estrés climático para producir altos rendimientos de grano. Son conocidas desde hace 7,000 mil años, el área de cultivo en los Andes va desde el nivel del mar hasta 4,000 metros de altitud; su mejor producción está en 2.500-3.800 msnm y a temperatura media de 5-14 °C. Por otro lado, es una Planta herbácea anual, de 0,20 a 3 metros; cada especie y eco tipo tiene sus virtudes de uso sea en la alimentación, como ritual, uso medicinal; en la transformación industrial y entre otros.

La Quinoa en los últimos 30 años a partir de su difusión a nivel mundial; está nuevamente en expansión y también se cultiva con fines industriales en otras partes del mundo como EE.UU y Europa. La parte aérea de la planta se usa como forraje verde, aprovechándose para alimentar al ganado; mientras que la semilla dependiendo de su variedad cuyo componente proteico varía entre 13,81 y 21,9%. Es el único alimento del reino vegetal, que contiene los aminoácidos esenciales; y que así lo ha establecido la Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura (FAO). Este contenido proteico le confiere capacidad protectora anti infecciosa, hidratante y cicatrizante; facilitando la regeneración celular, formando una película protectora sobre la piel. Además le confiere excelentes propiedades emolientes e hidratantes cutáneos debido al contenido ácidos como la Treonina; también contienen carbohidratos, vitaminas y ácidos grasos (18).

Gallego et al. (19) (Colombia, 2013), demostraron en un análisis químico los componentes de la Quinoa y de otros cereales; en su contenido de proteínas, lípidos e hidratos de carbono comparables a las de los cereales más comunes. Llegando a la conclusión; que la quinoa “es un excelente alimento funcional” que disminuye el riesgo de muchas enfermedades. Las propiedades funcionales se dan también por los minerales, ácidos grasos y antioxidantes que pueden hacer una contribución importante a la nutrición humana; en particular para proteger las membranas celulares y comprobando buenos resultados en las funciones neuronales del cerebro.

Bojanic (7) (América latina y el caribe, 2011), Reportan que en el altiplano y los valles de Bolivia, los curanderos Kallawayas le dieron múltiples usos a la quinoa; para fines de sanación e inclusive mágicos; usando para ello toda la planta. Los modos de preparación, usos internos y externo varían; los más usados son los de uso externos para controlar abscesos, hemorragias y luxaciones. Según estos curanderos, el tallo y las hojas de la quinoa cocidas con aceite, vinagre y pimienta aumentan la sangre; así como cocidas con vinagre las hojas para gárgaras o cataplasma, pues actúa como antiinflamatorio. Otros usos de las hojas cocidas con azúcar y canela, el cual desinflama el estómago, eliminan la flema y la bilis así como evita las náuseas y gastralgias tipo ardor. Las hojas en infusión, se usan en infecciones de las vías urinarias, así como laxante entre otros.

El *Chenopodium quínoa Willd*, consumir luego de ser lavada, para eliminar la saponina; que es una especie de jabón adherido a la cáscara. El agua producto del lavado constituye un jabón líquido para múltiples usos de limpieza. Las saponinas poseen propiedades detergentes excepcionales y antibacterianas; tienen sabor amargo, forman espumas estables en soluciones acuosas y presentan actividad hemolítica. Existiendo evidencias de acción antibacteriana de la Quinoa (20), sin embargo existen estrategias y planes de acción como cultivo para la seguridad alimentaria en beneficio de la población rural y el mercado mundial; entre ellos la Quinoa, Kiwicha, Kañiwa (21).

Bonifaz (22) refiere que la saponina de la quinua se encuentra en el pericarpio de la semilla, es un glucósido triterpenoide y tiene moléculas que actúan como “señales o como mensajeros de dispersión contra especies fitófagas”. Es toxica para uso en humanos, debido a que produce hemolisis de los eritrocitos al alterar la permeabilidad de su pared celular; así como modifica los niveles de colesterol en el hígado y sangre.

Tiwatt et al. (23) (Tailandia 2008), aislaron Veinte saponinas de triterpeno de las semillas de *Chenopodium quinoa*, tanto de sus flores, frutos, del pericarpio de la semilla y las semillas; es decir de sus estructuras para análisis químico y datos espectroscópicos. Identificando cuatro metabolitos de saponina no solo en la semilla, también en las hojas y el tallo; dichos metabolitos por el que sugiere el autor más estudios para demostrar actividad antibacteriana así como la toxicidad a salmuera camarones, y contra las enfermedades virales, efectos reductores del colesterol, y mejorar la absorción del fármaco a través de membranas mucosas. Estas saponinas de triterpenos aislados actúan como adyuvantes inmunológicos y de absorción para mejora específica de antígeno, las respuestas de anticuerpos y de las mucosas.

Según Seija (24) refiere que los *Staphylococcus aureus*, pertenece a la familia micrococcaceae, género Staphylococcus; son más de 30 especies diferentes; son cocos Gram-positivos, no móviles, no forman esporas; se encuentran en pares y en cadenas cortas o en racimos; produce catalasa, coagulasa y crece con rapidez en agar sangre. Sus colonias miden de 1 a 3 milímetros, con pigmento amarillo por carotenoides en su interior y muchas cepas hemólisan a las 24-36 horas. Son agentes patógenos para el hombre reconocidos desde hace mucho tiempo. También Bustos et al. (25) afirma que son altamente patógenos y responsables de muchas enfermedades; como lesiones en la piel (Impétigo) y abscesos localizados en cavidades; causante de infecciones profundas como la osteomielitis, endocarditis y septicemia; infecciones del sistema nervioso central, respiratorio y tracto urinario. También como agente principal de infecciones nosocomiales, intoxicaciones alimentarias por sus enterotoxinas que liberan en los alimentos y

finalmente producen el síndrome del shock tóxico por sus superantígenos liberados en el torrente circulatorio.

Lo encontramos generalmente en las fosas nasales, piel y mucosas; la piel al perder su continuidad por trauma o cirugía; puede encontrarse cercano a la herida y acceder provocando infección. Antes de la era antibiótica una bacteriemia causada por *S. aureus* producía una mortalidad aproximada del 82%. Actualmente, sigue elevado entre 25 y 63%; las infecciones por *S. aureus* está reemergiendo, debido a la resistencia a los antibióticos con los que normalmente se controlaba, aunado a su diseminación en la población sana. El antibiótico sensible para esta cepa en estudio es la Oxacilina, antibiótico bactericida, como isoxazolil penicilina; que resiste a la enzima betalactamasa y de elección para las enfermedades estafilocócicas. Cuyo mecanismo de acción es la inhibición de la síntesis de peptidoglicano de la pared celular bacteriana y así permitir que la penicilina se ligue a las proteínas que se encuentran en la membrana interna de la pared bacteriana (26).

La absorción disminuye si se administra con alimentos, por ello se debe administrar, 2 horas después de los alimentos o 1 hora antes. A dosis oral de 500 mg, el pico máximo de concentración es 5 a 7 µg/ml. Con una Vida media de 0,5 a 1 hora. Uniéndose a proteínas en un 94 %. Difunde rápidamente a tejidos y fluidos corporales; así como a la piel, riñones, pulmones, corazón, intestinos, líquido sinovial, bilis, líquido peritoneal, secreciones bronquiales, huesos, líquido ascítico, bazo y próstata. Penetra fácilmente si están inflamados al cerebro, líquido cerebroespinal y los ojos (26).

La Oxacilina, indicado en celulitis, osteomielitis, la otitis externa, impétigos, el tratamiento de neumonías complicadas, endocarditis estafilocócicas y entre otras infecciones productoras de beta-lactamasa. Contraindicado en antecedentes de hipersensibilidad a penicilinas y reacción de hipersensibilidad a beta-lactámicos (26).

Las definiciones conceptuales consideradas en el estudio experimental como el **Halo de inhibición.**- Zona donde no se produce crecimiento bacteriano, alrededor del disco de antibiótico e inoculado con el germen (27). **Eficacia.**- Capacidad del logro de un efecto de acuerdo a un estándar o normado (28). **Cepa estándar.**- Son microorganismos de un género y especie, depositados y mantenidos en una Colección de Cultivos o Centro de Recursos Biológicos y catalogados con el acrónimo de la colección BRC seguido de un número identificativo. Es equivalente a cepas de referencia (29). **Las saponinas** ("jabón"=Sapo).-Son glucósidos de esteroides o de triterpenoides: solubles en lípidos; con propiedades parecidas al jabón y contienen el azúcar que es soluble en agua formando espumas al ser agitadas con agua (30).

Extracto.- Obtenidos de vegetales, tejidos animales y de drogas. Generalmente están en estado seco (con una tolerancia aceptable en su contenido de constituyentes). Hay varios tipos de extractos, como extractos ajustados con actividad terapéutica, extractos líquidos: de los cuales están los extractos fluidos y tinturas; también los semisólidos o densos y finalmente los sólidos que son los más frecuentes (31). **Extractos cuantificados.**- Son ajustados a un rango de constituyentes; añadiéndose material específico o mezclando lotes del extracto (31). **Extractos estandarizados.**- Son extractos ajustados con sustancias inertes (31). **Producción de extractos.**- Son preparados que usan solvente como el etanol u otros, buscando la presentación de los metabolitos. Usando diferentes vegetales o tejido animal, los cuales antes de ser extraído debe someterse a un tratamiento preliminar como eliminación de impurezas, molienda o trituración e inactivación de enzimas antes de su extracción, (31).

Las plantas medicinales.- Según la Organización Mundial de la Salud, se define como "cualquier especie vegetal que contiene sustancias activas precursoras, con principios para la síntesis de nuevos fármacos y con propiedades terapéuticos; así como determinar su seguridad" (32). **Concentración mínima inhibitoria.**- sustancia mínima capaz de destruir el 99,9% de una muestra inoculada respetando los estándares. Usando cepas de control o de referencia para obtener resultados reproducibles y comparables. (33). **Cepas de reserva.**- Son cepas idénticas

obtenidas por un único subcultivo de una cepa estándar (33). **Cepas de trabajo.-** Son subcultivos primarios obtenidos de una cepa de reserva (33). **Antibacteriana.-** Agente capaz de eliminar las bacterias o inhibir su crecimiento, sin producir daño al órgano infectado (33).

Los medios de cultivo.- Son medios enriquecidos, con nutrientes específicos requeridos para su crecimiento de los microorganismos (34). **Los nutrientes.-** Sirven para la síntesis de energía y de material celular; hay nutrientes orgánicos e inorgánicos (34). **Componentes de medios de cultivo.-** Los componentes dependen del microorganismo que se cultiva y fines del cultivo; Los cuales son agua, sustancias orgánicas, sustancias inorgánicas y además un agente solidificante cuando es un medio de cultivo sólido (34).

Temperatura.- Cada microorganismo tiene una determinada temperatura para su crecimiento. Cuya **temperatura mínima**, donde no hay crecimiento y a temperaturas mayores hay una velocidad de crecimiento lineal. La **temperatura óptima**, cuando la velocidad de crecimiento es máxima la cual es 37°C. a temperaturas mayores del óptimo disminuye el crecimiento bacteriano y finalmente la muerte celular (34).

Centros de recursos biológicos.- Lugar donde se encuentran las cepas disponibles y centro de operaciones experimentales (35). **Cultivo.-** Población de microorganismos del crecimiento de un inóculo en condiciones adecuada (36). **Dilución.-** Los métodos de dilución miden la actividad antimicrobiana *in vitro* de un extracto natural sobre un microorganismo específico. Dicho extracto natural puede tener diferentes concentraciones. Hay dilución en caldo o en agar, sirve para determinar la concentración mínima inhibitoria del antibiótico y /o extracto natural, después de la incubación por 24 horas a 37 °C. Sin embargo la temperatura óptima varía de acuerdo a cada microorganismo (37).

El "*Chenopodium quínoa Willd*", en la actualidad se encuentra en su apogeo y uso en el mercado mundial; con sus potenciales para mejorar las condiciones de vida de la población andina y del mundo moderno. En nuestro medio no hay muchos

reportes de la actividad antibacteriana de dicha semilla, sus metabolitos secundarios aún no están estudiados en su totalidad. Sin embargo a nivel mundial hay interés por continuar en la investigación de la quinua, buscando sus otras fuentes benéficas. No sólo su acción como nutritivos; fisicoquímicos y antibacterianos; además de su uso en la industria alimentaria, también en la industria química, cosmética y farmacéutica (38).

Hay pocos proyectos científicos sobre los beneficios de la saponina como metabolito secundario de la Quinua que se encuentra en el descascarillado, aún es casi desconocida y poco aprovechada. Según especialistas en terapias bioenergéticas, los beneficios de la saponina son múltiples; además está siendo utilizada en Estados Unidos y Alemania como medicinas quimioterapéuticas para el manejo del cáncer; así como para elaborar hormonas como los esteroides; sin embargo son considerados residuo de desecho, que contienen saponina; que se elimina al lavar la semilla de la quinua antes de ser consumida (20).

Mientras que la sociedad científica tiene control en el manejo genético de la semilla, así como del germoplasma y estudiarlo buscando sus metabolitos secundarios con actividad antibacteriano; contribuiría a la solución de problemas infecciosos. Queda por demostrar in vitro y luego aplicarlo in vivo respectivamente (18).

Con este trabajo contribuiremos a la ciencia de las enfermedades infecciosas, farmacopea y sociedad para la apertura y su abordaje de la quinua con uso antibacteriano; siendo la población más vulnerable las zonas alto andinas de nuestro país. Además del uso indiscriminado de antibióticos, vienen generado una resistencia microbiana de patógenos.

1.1. PROBLEMA

¿Es, el extracto de *Chenopodium quínoa Willd* “quinua”, eficaz como antibacteriano sobre la cepa *Staphylococcus aureus* in vitro?

1.2. HIPÓTESIS

El extracto de *Chenopodium quínoa willd*, es eficaz como antibacteriano sobre la cepa de *Staphylococcus aureus*, *in vitro*.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. General

Evaluar la eficacia del extracto de *Chenopodium quínoa Willd* “quinua” como antibacteriano sobre la cepa *Staphylococcus aureus*, *in vitro*.

1.3.2. Específico.

- Determinar la eficacia antibacteriana del extracto de *Chenopodium quínoa Willd*, sobre la cepa *Staphylococcus aureus*, con sus diferentes diluciones.
- Comparar la eficacia antibacteriana del extracto de *Chenopodium quínoa Willd*, con su patrón respectivo Oxacilina.
- Determinar la eficacia antibacteriana de la Oxacilina sobre la cepa *staphylococcus aureus*.

II. MÉTODO

2.1. Variables

Variable Independiente: Tratamiento antibacteriano.

- a. Tratamiento con extracto de *Chenopodium Quínoa willd* (quinua).
- b. Tratamiento con Oxacilina (control)

Variable Dependiente

Eficacia antibacteriana sobre cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

2.2. OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	ESCALA DE MEDICIÓN
V. INDEPENDIENTE TRATAMIENTO ANTIBACTERIANO A.-Chenopodium quinoa willd	<p>La semilla del Chenopodium quinoa Willd oriunda del Perú, de grano de multicolores, rica en saponinas y nutrientes.</p> <p>20gr de semilla molida +</p> <p>80cc Etanol (97%) +</p> <p>20cc de suero fisiológico</p> <p>Obteniéndose:</p> <p>Extracto Hidro - etanólico :</p> <p>2gr/1ml (2mg/ul)</p> <p>Usando el extracto: Puro de 1ml, 0.9ml, 0.8ml, 0.7ml, y 0.6ml. El cual fue diluido con suero fisiológico aun volumen total de 1ml. Para obtener las diferentes diluciones.</p>	<p>Extractos hidro-etanolica del Chenopodium quinoa Willd por el método de maceración a diferentes concentraciones con SSFF, y sus controles (+) y (-)</p> <p>a. - 100%.</p> <p>b. - 90%.</p> <p>c. - 80%.</p> <p>d.- 70%</p> <p>e.- 60%</p> <p>f.- Control negativo SSFF.</p> <p>Se aplicó 20 ul de las diluciones del extracto en una placa Petri que contienen la bacteria inoculada.</p> <p>20ul (40mg/20ul)</p> <p>g.- grupo control positivo con Oxacilina</p> <p>1g de Oxacilina en 5mlSSFF.</p> <p>200mg/1ml(0.2mg/ul)</p> <p>Se usó 20ul (4mg/20ul)</p>	<p>RG1</p> <p>RG2</p> <p>RG3</p> <p>RG4</p> <p>RG5</p> <p>RG6</p> <p>RG7</p>	<p>Cualitativo nominal</p>
B.-Oxacilina	<p>OXACILINA</p> <p>Antibiótico B-lactámico sensibles a Stafhylococcus aureus, Actúa inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana.</p>			
V. DEPENDIENTE EFICACIA ANTIBACTERIANA Stafhylococcus aureus	<p>Zona en el que no se produce crecimiento bacteriano mostrando en una placa de agar inoculado con el Staphylococcus aureus</p> <p>Es una medida de la potencia del antibiótico frente a la bacteria.</p>	<p>Se midió la distancia entre el borde externo de la gota del extracto y la línea final formada por el halo de inhibición:</p> <p>Se considera eficaz si presenta un halo de inhibición igual o mayor de 13 mm. (39).</p>	<p>EFICAZ</p> <p>NO EFICAZ</p>	<p>Cualitativo</p> <p>Ordinal</p>

2.3. METODOLOGIA

Cualitativo, experimental

2.4. TIPO DE ESTUDIO

Aplicada, experimental

2.5. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Experimental puro

RG1	01	X1
RG2	02	X2
RG3	03	X3
RG4	04	X4
RG5	05	X5
RG6	06	X6
RG7	07	X7

R: Asignación al azar

G: Placas Petri con *Staphylococcus aureus*

X₁. Tratamiento donde:

X₁= 100% *Chenopodium quinoa willd* con 1ml extracto puro madre

X₂= 90% *Chenopodium quinoa willd* con 0.9ml extracto madre

X₃= 80% *Chenopodium quinoa willd* con 0.8ml extracto madre

X₄= 70% *Chenopodium quinoa willd* con 0.7ml extracto madre

X₅= 60% *Chenopodium quinoa willd* con 0.8ml extracto madre

X₆= Oxacilina (tratamiento estándar- control positivo) 20ul.

X₇= Solución salina (control negativo) 20ul.

O: Medida del halo formado (zona de inhibición) post aplicación del extracto vegetal (CASOS).

Testigos: Cepas expuestas al patrón Oxacilina.

2.6. POBLACIÓN Y MUESTRA

2.6.1 POBLACIÓN: Todas las bacterias existentes de *Staphylococcus aureus* (sembradas en la placa Petri del laboratorio).

2.6.2 MUESTRA: En total se utilizaron 4-5 colonias de *Staphylococcus aureus* cultivada en el laboratorio. Fueron necesarios 08 repeticiones por cada nivel de concentración, sin embargo, para efectos del presente estudio se realizaron 36 repeticiones por cada dilución de la muestra o tratamiento, Obteniéndose 216 muestras.

Unidad de análisis: Constituyó cada placa Petri con cultivo puro de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en donde se aplicaron los extractos a diferentes diluciones, así como el control positivo Oxacilina y control negativo la solución salina (SSFF) en cada placa.

2.6.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN:

Criterios de inclusión: Cultivo de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Criterios de exclusión: Cultivo de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 defectuosas o contaminadas.

2.7. TÉCNICAS E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

La técnica de recolección de datos a utilizar fue la observación de campo experimental.

Procedimiento: La recolección de la muestra fue en el mes de diciembre del 2014, se recolectó 10 eco tipos de semilla de quinuas nativas; los cuales fueron del Norte de Cajamarca 03 muestras, del Sur de Apurímac 04 muestras y del sur de Puno 03 muestras. Para dicho estudio previamente se hizo un scrining de contenido en saponina de los 10 Eco tipos por el método afrosimétrico. Fue seleccionado el Eco tipo rojo de Puno (cercado), cuyo nombre es la Quinoa real Toledo Rojo, con contenido mayor en saponinas (1.67%). Son semillas amargas con un pericarpio rojo y un epispermo rojo cuyo nombre Científico es *Chenopodium quinoa Willd.* El método afrosimétrico para determinar el % de saponina, fue realizada en la Universidad Agraria la Molina Lima - Perú.

La Obtención del extracto, según Rojas et al. (40). (2012), en el cual se usó el método de extracción por maceración Hidro-Etanólico. La semilla seleccionada luego de eliminar sus impurezas, estas sin lavar para conservar las saponinas en el estudio; estas se molieron previamente, luego se pesaron 20 g (peso seco) de muestra de semilla a investigar, seguidamente se sumergieron en 80 cc Etanol (97%) / 20cc Suero fisiológico; llevando a un volumen de 100 ml. en un matraz de vidrio, a temperatura ambiente; luego de mezclar, se maceró por 48 horas tiempo necesario para la fijación de la saponina y otros componentes antibacterianos, dicha semilla presentó su color rojo propio de fijación de los metabolitos. evidenciándose una solución jabonosa.

Agitando 15 minutos, 2 veces al día, luego se sometió a agitación constante con ayuda de un agitador magnético por 2 horas (rota vapor). Transcurrido el tiempo de maceración, el extracto se separó por decantación para filtrar primero con algodón y luego con papel de filtro a una velocidad moderada; el residuo se lavó con menstrio hasta completar el volumen de extracto establecido 25ml. Se dejó reposar en un recipiente bien cerrado a temperatura ambiente por 24 horas. Transcurrido ese tiempo se filtró y se evaporo en baño maría hasta lograr la concentración deseada, que fue de 20g/10ml; extracto madre, exento de alcohol fue transferido y conservado en un envase de vidrio estéril de color ámbar, rotulados y en refrigeración a - 4 grados Celsius hasta su posterior experimentación. (Ver anexo 09)

La preparación de la dilución del extracto hidro-etanólico obtenido, fue con suero fisiológico a concentraciones de 100%, 90%, 80%, 70%, y 60%. Es decir el 100% fue extracto puro 2g/1ml, el 90% fue 0.9ml de extracto y 0.1 ml de suero fisiológico, el 80% fue 0.8ml de extracto y 0.2ml de suero fisiológico y así sucesivamente. Las concentraciones fueron entre 2 a 1.2g / ml respectivamente (40).

Se trabajó con cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, los que se obtuvieron del departamento de Microbiología del Laboratorio de Análisis Clínicos de la Universidad Nacional de Trujillo. Fueron identificadas en base a la morfología

de las colonias, coloración Gram y patrón de Suceptibilidad determinándose las cepas ATCC 25923.

Obtenida la cepa, ésta se cultivó en tubo de ensayo con tapa rosca conteniendo el medio Agar nutritivo (Agar Sangre), incubándose a 37 °C para obtener colonias jóvenes. Luego de 24 horas el inóculo se tomó de fase exponencial de crecimiento, de 4 - 5 colonias de un cultivo puro para evitar seleccionar variantes atípicas al cual se agregó solución fisiológica 5ml, la suspensión resultante se agito vigorosamente durante 15 segundos hasta lograr una turbidez y se ajustó la densidad de la suspensión celular a un valor estandarizado en 5×10^8 UFC/ml, (escala de Mc Farlan); este ajuste produjo una solución salina de una concentración celular de $0,5 \times 10^5$ UFC/ml. La bacteria en estudio luego de mezclada durante 30 segundos para la distribución adecuada de los microorganismos se inoculó 20 ul en la superficie de la placa Petri; utilizando el asa Digrafsky esparciendo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme (40).

Se diluyo la Oxacilina de 1 gramo en 5 cc de suero fisiológico, obteniéndose 0.2mg/ul. El menstuo que se uso fue 20 ug. Que equivale a 4mg de Oxacilina en 20 ul; dicho volumen listo para llevar con la micro pipeta a cada pozo de la placa Petri consignada como pozo control positivo.

Para evaluar la sensibilidad de los diferentes extractos diluidos se utilizó la técnica de Kirby Bauer en difusión en disco, para ello se utilizaron 36 placas Petri con nutriente 25 ml de agar Mueller Hinton; ya sembradas con el inóculo de la cepa e inmediatamente se dividió en 07 partes iguales, en cada división se hizo 7 pozos de 6 mm de diámetro y 5mm de profundidad. En cada uno de los pozos se adiciono con la micro pipeta 20µL de las diluciones del extracto a evaluar cómo al 100%, 90%, 80%,70%,60%; asi como el control positivo Oxacilina 20µL (4mg) y control negativo suero fisiológico. (Ver anexo 01). Una vez colocado los tratamientos, las placas Petri fueron etiquetadas, selladas e Incubadas a temperatura de 37 grados Celsius con 5% de CO₂ por 24 horas para permitir su crecimiento. Hasta la medición de los halos de inhibición con ayuda de una regla milimetrada llamada Vernier (ver anexo 09).

El método consistió, en contar con una sustancia necesaria para inhibir el crecimiento bacteriano a través del halo de inhibición en la superficie de la placa de agar, en un medio de cultivo adecuado y sembrado homogéneamente. Algunos autores refrigeran las diluciones a 4°C para permitir la pre difusión de los extractos antes de la incubación (40). La difusión radial del extracto o del antibiótico, durante la incubación; difundieron desde su reservorio mientras la población microbiana aumentaba por división celular (41). El límite de la zona de inhibición se formó cuando se alcanzó la concentración mínima que inhíbe el crecimiento de la población microbiana presentes (42), (ver anexo 05)

El instrumento

Todos los resultados se registraron en la ficha de recolección de datos, realizando su posterior análisis, e interpretación; elaborada por el investigador (anexo 01).

La validación del instrumento

La validación y confiabilidad del instrumento, La validación del Instrumento fue realizada con la técnicas de criterio de Jueces, a través de la consulta de 3 expertos o jueces de la especialidad para la confiabilidad del instrumento y poder medir adecuadamente las variables planteadas; sin embargo toda medición está expuesta a un mínimo margen de error. En cuanto a los resultados, para la interpretación de los diámetros críticos se utilizó los instrumentos validados por MINSA-INS. Perú 2005. Organismo Público Descentralizado de Sector Salud; Tabla de Método de Difusión en Agar Normado por el "Comité Nacional de Normas de Laboratorios Clínicos (NCCLS)" ahora "Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio", el CLSI (43). (Ver anexo 02, 08)

2.8. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS

Los datos de la ficha de recolección, se registró en una hoja de cálculo de Microsoft Excel, posteriormente se ingresó a una base de datos elaborada en el paquete estadístico SPSS versión 20.0. (44). Para el análisis de datos obtenidos se emplearon datos estadísticos como, promedios, desviación estándar, cuadros y

graficas estadísticas, análisis de varianza, pruebas de comparación múltiple como el test de Dunnett (ver anexo 07).

Se realizó el análisis del cumplimiento de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas con las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Levene.

Al encontrarse el no cumplimiento de ambos supuestos se procedió a aplicar la prueba de Kruskal wallis evidenciándose que sí existe diferencia significativa entre los tratamientos aplicados y procediéndose a aplicar la prueba t3 de Dunnett para cada combinación de tratamientos aplicados, comparando la significancia < 0.05 (44).

2.9. ASPECTOS ÉTICOS

Ésta presente investigación, no requirió el consentimiento informado; puesto que no se trabajó con humanos. Según la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica, se tuvo en cuenta las pautas generales para la metodología de investigación y evaluación de la medicina tradicional de la OMS. Según el principio 12, la investigación médica en seres humanos debe conformarse con los principios científicos generalmente aceptados y debe apoyarse en un profundo conocimiento de la bibliografía científica, así como en otras fuentes de información y experimentos de laboratorio correctamente realizados. Así, mismo según el principio 13, al realizar una investigación médica, se debe prestar atención adecuada a los factores que puedan dañar el medio ambiente (45).

También se respetó el principio ético del capítulo 6 del código de ética del Colegio Médico del Perú titulado: "Del trabajo de investigación", específicamente el Art.48°, donde habla de la veracidad en la publicación de los resultados obtenidos en el estudio. Así mismo, se tuvieron en cuenta los principios de bioseguridad correspondiente a trabajos in vitro (46).

III.- RESULTADOS

TABLA 1 Eficacia antibacteriana del extracto de *Chenopodium quínoa Willd*, sobre la cepa *Staphylococcus aureus*, con sus diferentes diluciones.

Tratamiento	N	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
				Límite inferior	Límite superior
100%	36	11,33	0,148	11,042	11,625
90%	36	9,72	0,148	9,431	10,014
80%	36	4,53	0,148	4,236	4,819
70%	36	2,28	0,148	1,986	2,569
60%	36	0,69	0,148	0,403	0,986
Oxacilina	36	47,78	0,148	47,486	48,069
Total de muestras	216	0.00	0.00	0.00	0.000

Fuente: Datos de laboratorio.

En la tabla 1 de las 216 muestras, vemos las distintas diluciones 100%, 90%, 80, 70% y 60%; con 36 repeticiones cada una de ellas. Ninguna presentó eficacia antibacteriana, sin embargo la dilución al 100% presentó solo en 4 muestras eficacia antibacteriana lo cual no fue significativa y mucho menos con las diluciones inferiores. Los halos promedios que arrojaron fueron de 11,33, 9,72, 4,53, 2,28, y 0,69 mm. solo con actividad antibacteriana.

En la misma tabla 1, los que arrojaron mayor halo de inhibición promedio fueron los del 100% y 90% de dilución. Cuyo promedios de halo para el 100% de dilución fue de 11.33 mm, con un límite superior de 11.625 y con un límite inferior de 11.042; y el 90% el promedio de halo fue de 9.72 mm. y con un límite superior de 10.014 y límite inferior de 9.431mm.

TABLA 2 Comparación de la eficacia antibacteriana del extracto de *Chenopodium quínoa Willd*, con su patrón respectivo Oxacilina.

Concentración/ Tratamiento	Eficacia	
	N	%
100%	4/36	11,10
90%	0/36	0,00
80%	0/36	0,00
70%	0/36	0,00
60%	0/36	0,00
Oxacilina	36/36	100,0
Control negativo	00/36	0,00

Fuente: Datos de laboratorio.

En la tabla 2, vemos una eficacia antibacteriana de 11.1%, en la dilución al 100 %; en el cual solo en 4 muestras de las 36 repeticiones, hubo halos de inhibición igual o mayores de 13 mm. Como la norma exige. Con una ineficacia de 88.9%. frente a la cepa *Staphylococcus aureus*. Estos resultados comparando con su patrón Oxacilina el cual tuvo una eficacia del 100% en las 36 repeticiones.

En la tabla 2, también se puede apreciar la eficacia antibacteriana de la Oxacilina sobre la cepa *Staphylococcus aureus*

La eficacia antibacteriana de la Oxacilina no tienen un nivel de comparación antibacteriana frente a la cepa *Staphylococcus aureus*; ya que se comportó en las 36 repeticiones de cada dilución con una eficacia del 100%, pues tubo halos de inhibición de 47- 48 mm. Un patrón altamente potente y sensible. Como se puede apreciar, cuyo límite inferior fue de 47.486 y límite superior de 48.069; y un promedio de 47.78 mm.

También es necesario indicar que con la prueba de Levene se contrastaron la hipótesis de homogeneidad de varianzas, demostrándose que no existe homogeneidad de varianzas por lo cual adicionalmente se aplicó la prueba de

kruskal wallis, evidenciándose que al igual que en los resultados del ANOVA, indica que existe diferencias altamente significativas al aplicar los diferentes tratamientos o concentraciones. Con una P de significancia de <0.05 .

IV.- DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos demuestran que hubo halo de inhibición en las distintas diluciones; sin embargo la eficacia antibacteriana solo se evidenció en la dilución al 100% (extracto puro), con una eficacia de solo 11.1%; es decir solo en 4 de 36 repeticiones el halo fue igual o mayor de 13 mm según la Norma CLSI.

En cuanto a la eficacia con sus diferentes diluciones de los extractos hidro-etanólicos no tienen mucha relevancia; porque el único extracto al 100% de dilución fue aun de escasa significancia, debido a que en las 36 repeticiones no superó halos de 13 mm. o mas por lo menos en el 99.9% de las repeticiones para hablar de eficacia antibacteriana. Y con una ineficacia antibacteriana de 88.9%. Sin embargo su sensibilidad intermedia fue 55.55%, es decir en 20 repeticiones de 36 muestras al 100% de dilución; los halos de inhibición fueron de 11 a 12 mm. Según el Método de difusión en agar Normas CLSI - NCCLS Año 2005.

En la dilución al 90%, solo se obtuvo una sensibilidad intermedia en solo 6 repeticiones de 36 muestras; Mientras que en las diluciones de 80, 70 y 60 %. son menos comparable puesto que los halos estuvieron por debajo de 10 mm. Son concentraciones, sin eficacia antibacteriana; de esto se deduce que los extractos puros naturales, tienen comportamiento significativo respecto a las diluidas.

Sin embargo si comparamos con los resultados de **Miranda et al. (8)**, solo determinó la actividad antibacteriana mas no eficacia; no utilizó las tablas Según el Método de difusión en agar normado y el patrón que usó fue amoxicilina 100ug/ml. que no tienen sensibilidad contra *Staphylococcus aureus*; sin embargo obtuvo halos de inhibición de 8.53 a 15.00 mm. con el extracto de la quinua de Cancosa (norte de Chile).

Respecto a la dilución de los extractos, los resultados de inhibición por el método de difusión en disco fueron directamente proporcionales a las concentraciones del extracto en estudio; así como los resultados de **Toribio et al. (15)** en el que evaluaron la actividad antimicrobiana luego de un scrining de 80 extractos vegetales metanólicos puros provenientes de plantas silvestres, recolectadas en diferentes áreas geográficas de la provincia de La Pampa (Bolivia); el 41,25% de las especies vegetales presentaron halo de inhibición frente a *Staphylococcus aureus*.

También **Keskin (5)**, reportó extractos puros de metanol, acetato de etil y etanol con actividad antibacteriana, los cuales no fueron sometidos a diluciones; consiguiéndose halos desde 7- 24 mm. de diámetro. Lo mismo **Hassan et al. (12)**, al evaluar la actividad hemolítica y antimicrobiana del extracto de GM saponina ricos, sus resultados indicaron que sólo el 100% de la fracción de Metanol exhibieron actividades tanto hemolíticas y antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, confirmándose que mejor se comporta el extracto puro sin dilución.

Mientras que **Melgarejo et al. (10)**, en sus estudios sobre la composición del *Chenopodium quinoa willd* demostró actividad antibacteriana a través de la presencia de aminoácidos esenciales en la semilla cruda luego del descascarrillado y lavado; igualmente **Guevara (9)**, elaboro la crema cosmética utilizando la saponina de la Quinoa; sin descascarrillado y sin lavado. Dicha crema, actúo como antibacteriano y antimicótico; donde hubo ausencia total de unidades formadoras de colonia por gramo. Lo mismo analizó **Miranda et al. (8)** el contenido fitoquímico de fenoles, de flavonoides y de saponinas de los cuales tuvo mayor actividad antibacteriana los flavonoides; mientras que la presente investigación, sometió a la semilla aun scrining en saponinas para seleccionar la muestra; metabolito responsable de esta bioactividad (Ver anexo 06); Asi como lo demuestra también **Kuljanabhagavad et al. (23)**, al identificar veinte metabolitos de la saponina tanto en la semilla las hojas y tallo sugiriendo más estudios para demostrar su actividad antibacteriana.

Y comparando la eficacia antibacteriana del extracto de *Chenopodium Quinoa Willd* con su patrón Oxacilina, solo el extracto puro al 100% obtuvo una eficacia del 11.10 % respectivamente. Mientras que la Oxacilina tuvo una eficacia del 100% en las 36 repeticiones con halos de 47 a 48 mm. No hay reportes de los antecedentes que se reviso sobre comportamiento de los patrones antibióticos que usaron como consulta al respecto; sin embargo casi todos coinciden en usar extractos puros sin diluirlos con mejor comportamiento antibacteriana.

En cuanto a patrones de control, **Korcan et al. (11)**, además de usar extractos puros, tuvo más criterio en usar patrones de control como amoxicilina más ácido clavulánico, ampicilina, teicoplanina entre otros como susceptibles para las bacterias en su estudio; sobre actividad antibacteriana del extracto etanólico de la hoja de *Chenopodium álbum*, al igual que el autor; la actividad antibacteriana más sensible se registró para *Bacillus subtilis* con un halo de inhibición de 13 mm.

El autor uso Oxacilina como patrón frente a la cepa *Staphylococcus aureus*, cuyos resultados obtenidos fueron por encima de los valores establecidos (47.78 mm. promedio) por la norma según Método de difusión en agar Normas CLSI - NCCLS Año 2005. Inclusive extendiéndose su eficacia en 3.5 veces respecto a la norma. Mientras que **Miranda et al. (8)**, uso amoxicilina como patrón positivo tanto para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*; el cual es un antibiótico no sensible y no identifico su eficacia del patrón.

V.- CONCLUSIONES

1.- El extracto de *Chenopodium quínoa Willd* con sus diferentes diluciones no fue eficaz contra la cepa *Staphylococcus aureus*.

2.- El extracto de *Chenopodium quínoa Willd* no tiene eficacia comparativa con la Oxacilina; frente a la cepa *Staphylococcus aureus*.

3.- La Oxacilina fue eficaz frente a la cepa *Stafhylococcus aureus*.

.

VI.- RECOMENDACIONES

Se sugiere continuar con la investigación buscando actividad antibacteriana por que el extracto puro si tienen sensibilidad intermedia.

Hacer un scrining previo de los metabolitos buscando moleculas de saponina, fenoles, flavonides y otros de comportamiento antibacteriano.

En la recolección de las muestras tener en cuenta su procedencia, el eco tipo, zonas de la región, tipos de suelos y la altura sobre el nivel del mar.

Desarrollar mas investigaciones en la UCV concernientes a aprovechar las plantas para el tratamiento de enfermedades.

VII.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1.- Carballo, M. A., Cortada C.M. y Galano A.B. Riesgos y Beneficios en el Consumo de Plantas Medicinales. Teoría, [Internet] 2005; [Citado el 24 de Nov. de 2016] Vol. 14 (2): 95-108.

Disponible en: <http://www.ubiobio.cl/theoria/v/v15/a10.pdf>

2. Vidaurre de la Riva, Prem Jai. Plantas medicinales en los Andes de Bolivia. Herbario Nacional de Bolivia, Investigación en salud [Internet].2006. [Citado el 26 de Ago. de 2014]; Bolivia; Universidad Mayor de San Andrés, La Paz; pp.268-284.

Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/51835066/plantas-mediinales-bolivia>.

3. Proyecto de Ley Perú. Ley 2474 C R. Que declara a las Plantas Medicinales como Patrimonio de la Nación y fomenta su cultivo, comercialización y consumo, Congreso de la república (16 Julio 2012) [Citado el 26 de Ago. de 2014]; Disponible en:

[http://www2.congreso.gob.pe/Sicr/TraDocEstProc/Contdoc01_2011.nsf/0/ae7e12f435f8479305257bab000cda93/\\$FILE/PL02474160713.pdf](http://www2.congreso.gob.pe/Sicr/TraDocEstProc/Contdoc01_2011.nsf/0/ae7e12f435f8479305257bab000cda93/$FILE/PL02474160713.pdf)

4. Organización Mundial de la Salud. Resistencia antimicrobiana [Internet], Perú, Organización Mundial de la Salud, [citado el 16 Dic. 2014]. Disponible desde:

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>

5. Keskin D, Toroglu S. Studies on antimicrobial activities of solvent extracts of different species.J of Environmental Biology; EE. UU. [Internet]. 2011. [Citado el 26 de Ago. de 2014]; 32: pp. 251-256. Disponible en:

http://www.jeb.co.in/journal_issues/201103_mar11/paper_18.pdf

6. Da Silva G. Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura. El 2014 será el Año Internacional de Agricultura Familiar: Gobierno peruano. Diario rpp. 17 diciembre 2013. [Citado el 26 de Ago. de 2014]; Disponible en:

http://www.rpp.com.pe/2013-12-17-fao-el-2014-sera-el-ano-internacional-de-agricultura-familiar-noticia_655598.html.o-internacional-de-la-quinua-2013/

7. Bojanic A. La Quinoa: Cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial. Oficina nacional para América y el Caribe. Representante Regional Adjunto. Coordinador del Equipo Multidisciplinario para América del Sur. Bolivia [internet] julio 2011; [Citado 26 Ago. 2014]. pp. 35-36. Disponible en:

http://www.fao.org/fileadmin/templates/aiq2013/res/es/cultivo_quinua_es.pdf

8. Miranda M, Herrera J, Gálvez A, Jorquera E, Quispe I, Martínez E, et al. Antimicrobial Potential and Phytochemical Content of Six Diverse Sources of Quinoa Seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) Agricultural Sciences, Published Online September 2014 in SciRes. Chile; [Internet]. 2014; [Citado 26 Agust. 2014]. 5, pp. 1015-1024.

Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4236/as.2014.511110>

9. Guevara E. R. Saponinas Triterpénicas de la Quinoa (*Chenopodium quinoa* willd)) en la Elaboración de una Crema con Actividad Exfoliante. [Tesis título]. Ecuador. Escuela politécnica de Chimborazo, facultad ciencias farmacia y bioquímica: 2013. [Citado 29 Ago. 2014]; pp.90-106.

Disponible en:

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2588/1/56T00365.pdf>

10. Melgarejo M, Almanza G, Sterner O. Masson L. Lipid Content, Fatty Acids, Tocopherols And Tocotrienols Composition Of Ten Bolivian Quinoa Cultivars. Investigaciones en Química y Farmacología. [Internet]. 2013, Set. [Citado 05 Set. 2014]; pp.125-126.

Disponible

en:

<http://revistas.ucr.ac.cr/index.php/clinica/article/viewFile/13137/12409>

11. Korcan E, Aksoy O, Erdogmus F, Cigerci H, Konuk M. Evaluation of antibacterial, antioxidant and DNA protective capacity of *Chenopodium album*'s ethanoic leaf extract. ; Chemosphere 90 (2013). [Citado 05 Set. 2014]; p.374–379.

Disponible en:

<http://labroots.com/user/publications/load-advancessearch/ipi/Pubmed/Word/Cigerci+IH/check/>

12. Hassan S.M, Haq A.U, Byrd J.A, Berhow, M.A, Cartwright A.L, C.A. Bailey. Haemolytic and antimicrobial activities of saponin-rich extracts from guar meal. Food Chemistry. Volumen 119, Issue 2, 15 March (2010). [Citado 28 feb.2016]; pp: 600–605.

Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.06.066>

13. Tenorio R, Terrazas E, Alvarez M, Vila J, Mollinedo P. Concentrados de saponina de Chenopodium quinoa y de Ciphora andina: Alternativas como Biocontroladores de hongos Fito patógenos. Revista Boliviana de Quimica [Revista on line] 2010 [Consultado 05 Setiembre 2014]; (27); (33-39). Disponible en:

http://www.bolivianchemistryjournal.org/QUIMICA%202010%20PDF/6_CONCENTRADOS_DE_SAPONINA_DE_CHENOPODIUM_QUINOA.pdf

14. Elizalde A, Porrilla Y, Chaparro D. Factores Anti nutricionales en semillas. Grupo de Investigación Innovaciones Agroindustriales con Proyección Social, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Cauca Colombia.2009. Feb. [Citado 29 Ago. 2014]; p. 48-49.

Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v7n1/v7n1a07>

15. Toribio M, Oriani S, Toso R, Tortone C, Fernández J. Suceptibilidad de Staphylococcus aureus a extractos vegetales obtenidos de plantas nativas y naturalizadas de la provincia de la pampa. Farmacología y Actividad Biológica. Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal. [Revista on line] 2007 [Citado 14 Set. 201]; 6, pp.367-368.

Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/856/85617472027.pdf>

16. Zegarra, G. Actividad detergente y acaricida de principios activos de Quinuas amargas, aceites esenciales y Tarwi [Internet] 2011, junio [Citado 05 Setiembre 2014]; pp.11-13. Disponible en:

[http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/123456789/685/ZEGARRA GRACIELA ACTIVIDAD DETERRENTE ACARICIDA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/123456789/685/ZEGARRA_GRACIELA_ACTIVIDAD_DETERRENTE_ACARICIDA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

17. Repo C, Encina R. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de cereales andinos: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), Kaniwa (*Chenopodium pallidicaule*) y Kiwicha (*Amaranthus caudatus*) Revista Sociedad Química de Perú. [Internet] 2008 [Citado 12 Set. 2014]; 74 (2): pp.85-99. Disponible en:

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810634X2008000200002&script=sci_arttext

18. Mujica A, Jacobsen S, Izquierdo J, Marathee J. Quinoa: Ancestral cultivo andino, alimento del presente y futuro. Fondo de las naciones Unidad para la alimentación y la agricultura. Santiago, Chile. [Internet] 2004 [Citado Septiembre 30, 2014]; pp.26-59. Disponible en:

http://www.fao.org/fileadmin/templates/aiq2013/res/es/cultivo_quinoa_es.pdf

19. Gallegos D, Russo L, Attianese P, Barbarulo V, Rastrelli L. Chemical and Nutritional characterization of *Chenopodium Pallidicaule* (cañihua) and *Chenopodium quinoa* (quinoa) seeds. Investigación en Química y Nutrición Universidad Nacional de Colombia. Sociedad Ítalo latinoamericana de etnomedicina (SILAE) XXII Costa Rica [Internet]. 2013, Set. [Consultado 05 set 2014]; p.23-24.

Disponible en:

http://www.silae.it/docs/eventi/sl22/Atti_XXII_SILAE_Puntarenas_v3.pdf

20. Muñoz M. Monografía de la quinua y comparación con amaranto: Asociación argentina de Fito medicina [Seriada en línea] [Citado 30 Octubre 2014]; pp.21,22. Disponible

en: http://www.plantasmedicinales.org/archivos/quinua_y_amaranto_estudios_comparativos.pdf

21. La agricultura Andina. Granos y leguminosas andinas INIAA, Gobierno de Perú [Internet]. Arequipa, Perú. La agricultura Andina [Citado 18 Set. 2014]. Disponibilidad en:

<http://www.inia.gob.pe/programas/cultivos-andinos>

22. Bonifaz L. Determinación de la actividad insecticida de la saponina de quinua (*Chenopodium quinoa*) hidrolizada y no hidrolizada sobre *Drosophila melanogaster* [Tesis título] Ecuador: Escuela Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias Bioquímica y Farmacia. 2010, Jun. [Citado 18 set 2014]; p. 22-24.

Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/390>

23. Kuljanabhagavad T, Thongphasuk P, Chamulitrat W, Wink M. Triterpene saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. T. *Phytochemistry* 69, Jun (2008,) [Citado 18 feb 2016]; pp: 1919–1926.

Disponible en:

[http://C:/Users/Usuario/Downloads/cientifico%20de%20la%20quinua%20elsevier%202008%20leer%20\[Unlocked%20by%20www.freemypdf.com\].pdf](http://C:/Users/Usuario/Downloads/cientifico%20de%20la%20quinua%20elsevier%202008%20leer%20[Unlocked%20by%20www.freemypdf.com].pdf)

24. Seija V. Etiopatogenia microbiológica. *Staphylococcus aureus*, *Bacteriología y Virología Médica*; [Internet].2006. [Citado 22 set 2014]; (17): 257-262.

Disponible en:

<file:///C:/Users/Usuario/Downloads/220360818-Temas-de-Bacteriologia-y-Virologia-Medica.pdf>

25. Bustos J, Martínez A, Hamdan A, Gutiérrez M. *Staphylococcus aureus* resistentes a metilicina adquiridas en la comunidad. Depto. de Biológicos Universidad Autónoma Metropolitana México. [Internet]. 2006. [Citado 22 set 2014]; (17):287-305.

Disponible en: <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb061746.pdf>

26. Colegio médico del Perú, Vademécum Médico del Perú de la revista Médica; Ediciones pablo Ginberg; Lima Perú 2008; [Citado 20 Set. 2014]; p. 14 – 15.

27. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. Fuente de conocimiento y tecnologías agropecuarias para la competitividad, Quito-Ecuador. Publicación Miscelánea N° 108. 2010. [Citado 22 set 2014]; p. 9-11. Disponible en:

<http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Folleto%20contribucion.pdf>

28. Etiopatogenia microbiológica. staphylococcus aureus, Bacteriología y Virología Médica; [Internet].2009. [Citado 22 set 2014]; (17) : 257-262.

Disponible en: <file:///C:/Users/Usuario/Desktop/Staphylococcus.pdf>

29. Bustos J, Martínez A, Hamdan A, Gutiérrez M. Staphylococcus aureus reemergencia en la comunidad. Depto. de Biológicos Universidad Autónoma Metropolitana México. [Internet]. 2006. [Citado 22 set 2014]; (17):287-305. Disponible en:

<http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2006/bio064f.pdf>

30. Orozco R. Elaboración de gel pomada y crema antiviral de Binde pilosa con el control de calidad. Riobamba- Ecuador. Facultad de Ciencias. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 2005. [Citado 22 set 2014]; p. 67-88. Disponible en:

<http://biblioteca.esPOCH.edu.ec/listado%20tesis/Doctor%20en%20Bioquimica%20y%20Farmacia.pdf>

31. Extractos Farmacognosia. Plantas medicinales, Gobierno de Valencia [Internet].Valencia [citado 28 Oct. 2014] Web Disponible en:

<http://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/extractos/>

32. Morón R, Francisco J. Las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud acerca del uso de los tratamientos tradicionales. *Rev. Cubana Plant Med* [online]. 2008, vol.13, n.4 [citado Oct.2016], pp.01.

Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962008000400001&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1028-4796.

33. Taroco, R. Seija, V. Vignoli, R. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica temas de Bacteriología y Virología médica, [Internet].2010. [Citado 24 Nov. 2016]; cap. 36 pp. 663-665.

Disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA36.pdf>

34. Pisabarro A.G. Microbiología General. Cultivo de microorganismos. Cap. 1 de la 8ª edición de Brock: Biología de los microorganismos; [Internet].2009. [Citado 22 Set. 2014]; pp.1-19.

Disponible en:

<http://www.unavarra.es/genmic/microgral/Tema%2002.%20Cultivo%20de%20microorganismos.pdf>

35. Curso de Medicina Natural. Saponinas triterpénicas. [Internet]. Perú. [Citado 28 Oct. 2014]. Disponible en: www.rdnatural.es/blog/saponinas/

36. Boada, J. Historia de la Farmacología. Orígenes y desarrollo de la quimioterapia antimicrobiana: Actualidad en Farmacología y Terapéutica [Internet]. 2013 [citado el 26 de Ago. de 2014]; (11)(04): pp. 241-249. Disponible en: www.iqb.es/farmacologia/revista.

37. Tangarife C. Microbiología. Escuela de Microbiología. [Internet]. Antioquia 2010 (SSO Docente 2011). [Citado 08 Nov. 2014.]; Disponible en: <http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/mod/page/view.php?id=100913&inpopup=1>

<http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/mod/resource/view.php?inpopup=true&id100909>

38. Quinoa. Un futuro sembrado hace miles de años, Gobierno de EE.UU. [Internet] EE.UU, [Citado 18 Set. 2014].

Disponible en: <http://www.fao.org/quinoa-2013/what-is-quinoa/use/es/0>

39. Sacsquispe R. E. Manual de procedimientos para la prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el método de disco difusión. Centro Nacional de Laboratorios

en Salud Pública. Instituto Nacional de Salud. Serie de Normas Técnicas N° 30.[Internet].2010. [Citado 10 Nov. 2014] ;(41): Pag.20-23. Disponible en:

http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-1/manua_l%20sensibilidad.pdf

40. Rojas J, Pérez N, Martínez J, Mieles J. Actividad antibacteriana de extracto de hojas de Meliá azedarach L. Revista Colombiana de Biotecnología, ISSN. 1909-8758, [Internet].2012. [Citado 10 Nov. 2014]; (14.) N°. 1. P: 224-232.

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=77624081021>

41. Hassan M, Javadzadeh Y, Lotfipour F, Badomchi R. Determination of comparative minimum inhibitory concentration (MIC) of bacteriocins produced by enterococci for selected isolates of multi-antibiotic resistant Enterococcus spp. Advanced Pharmaceutical Bulletin. 2011. [Internet] 1999. [Citado 10 Nov. 2014]; 1(2); P: 75-79. Disponibilidad en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3845979/pdf/apb-1-75.pdf>

42. Koneman E. Diagnóstico Microbiológico: Texto y Atlas a color. 6era. Ed., Buenos Aires; Ed. Médica Panamericana, (Argentina), [Internet] 2008..[Citado consultado 12 Nov. 2014]; 2008. p. 664-597. Disponible en:

<http://www.medicapanamericana.com/Libros/Libro/3803/Koneman-Diagnostico-microbiologico.html>

43. Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio. Integración de una perspectiva mundial, Editores de Negocios, Redactores de Salud, Medicina. [Internet] 2005, Marz. [Citado 23 de Noviembre 2014]. Disponible en:

<file:///C:/Users/Usuario/Downloads/manual-pruebas-susceptib-antim-2005.pdf>

44. Bakieva M, González J, y Jornet, J. SPSS: ANOVA de un Factor grupo de Innovación. Educativa Universitaria de Valencia [Internet]. Valencia; 2012: [Citado 21 Nov. 2014].

Disponible en: <http://www.uv.es/innovamide/spss/>

45. Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Principios Éticos para las Investigaciones médicas en seres humanos, 59ª Asamblea General, Seúl, Corea, [Internet]. 2008 Oct. Disponible en: Centro de Documentación de Bioética. México. [Revisado on line]. 2013, Dic. [Citado el 21 de Nov. de 2014].

Disponible en: http://www.wma.net/es/30publications/10policies/b3/17c_es.pdf

46. Colegio Médico del Perú. Código de Ética y Deontología. [Internet]. Lima. 2007 [Citado el 24 de Nov. de 2016]. Disponible en:

http://cmp.org.pe/wp-content/uploads/2016/07/CODIGO_CMP_ETICA.pdf

ANEXO 01

INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS,

FICHA 1. Efecto inhibitorio “in vitro” de los extractos hidro-etanólicos de la semilla estudiada a diferentes concentraciones.

Efecto inhibitorio medido en halos de crecimiento				
<i>Staphilococcus aureus</i>				
TRATAMIENTO NO FARMACOLOGICO Y FARMACOLOGICO	DILUCIONES	RESISTENTE 10 mm	INTERMEDIO 11-12 mm	SENSIBLE 13 mm
SEMILLA <i>Chenopodium quinoa willd.</i>	G 100% G2 90% G3 80% G4 70% G5 60%			
Patrón OXACICLINA				

FICHA 2. Halos de inhibición de las distintas concentraciones de los extractos etanólicos, de *chenopodium quinoa willd* con su patrón Oxacilina.

ANEXO 2

<div>BACTERIA</div> <div>Staphilococcus aureus.</div>	<div>HALOS DE INHIBICION los extractos etanólicos de la planta</div>																	
	<div>Extracto etanólico de <i>Chenopodium quinoa willd</i></div> <div>DILUCIONES</div>																	
	<div>60%</div> <div>(mm)</div>			<div>70%</div> <div>(mm)</div>			<div>80%</div> <div>(mm)</div>			<div>90%</div> <div>(mm)</div>			<div>100%</div> <div>(mm)</div>			<div>Oxacilina</div> <div>(mm)</div>		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Muestra nª1																		
Muestra nª2																		
Muestra n36																		

INSTRUMENTO VALIDADO

ANEXO N° 02

FICHA DE EVALUACIÓN INSTRUMENTO POR EXPERTO

ÍTEM	CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ				CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS ESPECÍFICOS							
	CONTENIDO (Se refiere al grado en que el instrumento refleja el contenido de la variable que se pretende medir)		CONSTRUCTO (Hasta donde el instrumento mide realmente la variable, y con cuanta eficacia lo hace)		RELEVANCIA (El ítem es esencial o importante, es decir, debe ser incluido)		COHERENCIA INTERNA (El ítem tiene relación lógica con la dimensión o el indicador que está midiendo)		CLARIDAD (El ítem se comprende fácilmente, es decir, sus sintácticas y semánticas son adecuadas)		SUFICIENCIA (Los ítems que pertenecen a una misma dimensión bastan para obtener la dimensión de esta)	
	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO
1	X		X		X		X		X		X	
2												
3												
4												
5												

CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS GENERALES		SI	NO	OBSERVACIONES
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas para responder la ficha de cotejos		X		
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación		X		
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial		X		
El número de ítems es suficiente para recoger la información. En caso de ser negativa la respuesta sugiera los ítems a añadir		Y		
VALIDEZ				
APLICABLE	X	NO APLICABLE		APLICABLE TENIENDO EN CUENTA OBSERVACIÓN

Validado por:


Jaime A. Polo Gamboa
 MICROBIOLOGO
 C.B.P. 8951

Fecha: 14/11/2014

Firma y sello

ANEXO 4

POBLACIÓN MUESTRA:

$$n = \frac{2 (Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \sigma^2}{\delta^2} = 8$$

Dónde:

$Z_{\alpha} = 2.58$; asumiendo un nivel de confianza del 99%

$Z_{\beta} = 1.282$; asumiendo una potencia de 90%

$\sigma = 0.84$

$$\delta^2 = \bar{X}_1 - \bar{X}_2 = 12.79 - 11.11 = 1.68$$

Son necesarias 8 repeticiones por cada nivel de concentración o tratamiento a aplicar, sin embargo para efectos del presente estudio se trabajó con 36 repeticiones por cada nivel de concentración o tratamiento por decisión del investigador.

Es la formula usada cuando se hace trabajos experimentales cuyas repeticiones nos dan confiabilidad de los resultados.


ANEXO 5

TABLA 3 BASE DE DATOS DE LA EFICACIA ANTIBACTERIANA DEL *Chenopodium quinoa willd* sobre STAPHYLOCOCCUS AUREUS, LAS DIFERENTES DILUCIONES Y LOS CONTROLES POSITIVO Y NEGATIVO.

Tabla 03							
EFICACIA ANTIMICROBIANA <i>Chenonopodium quinua willd</i>							
SOBRE STAPHYLOCOCCUS AUREUS							
DIAMETRO DEL HALO (mm)							
DILUCIONES %							
CODIGO	100	90	80	70	60	CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
1	12	10	5	1	1	48	0
2	11	9	4	1	1	48	0
3	10	10	5	3	2	48	0
4	11	10	5	1	1	48	0
5	12	9	5	3	2	48	0
6	11	11	5	1	1	46	0
7	12	10	5	1	0	48	0
8	12	10	6	4	1	48	0
9	12	10	5	1	1	48	0
10	12	10	5	2	0	48	0
11	15	11	5	3	0	47	0
12	14	12	5	3	0	47	0
13	13	11	5	2	0	47	0
14	10	9	5	4	0	47	0
15	9	8	4	1	1	47	0
16	10	9	4	3	2	48	0
17	12	9	4	3	0	48	0
18	12	9	4	3	0	48	0
19	13	9	5	2	0	48	0
20	12	9	4	1	0	48	0
21	12	11	4	4	1	48	0
22	11	10	4	3	2	48	0
23	11	9	4	3	3	48	0
24	12	10	3	3	1	48	0
25	10	9	3	3	1	48	0
26	10	10	4	2	1	48	0
27	10	10	5	1	0	48	0
28	10	9	5	2	0	47	0
29	10	10	5	1	1	48	0
30	10	9	5	3	0	48	0
31	12	10	5	2	0	48	0
32	11	10	5	2	1	48	0
33	10	11	5	2	0	48	0
34	12	10	4	3	0	48	0
35	12	9	4	3	1	48	0
36	10	8	3	2	0	48	0
PROMEDIO	11.33	9.72	4.53	2.28	0.69	47.78	0

ANEXO 6

Estudio de 10 muestras de *Chenopodium quinoa willd*, objetivo determinar las concentraciones de saponinas. Estudio en la **Universidad Agraria la Molina-LIMA- PERU**.



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
Programa de Investigación y Proyección Social en Cereales y Granos Nativos
Tel.: 349-5799 – Central 614-7800, anexo 358, Apartado 12-056 – Av. La Molina S/N, La Molina, Lima Perú
pcereal@lamolina.edu.pe

RESULTADOS DE ANALISIS

FECHA DE RECEPCIÓN : 13 – 02 – 2015

FECHA DE ENTREGA : 17 – 02 – 2015

NOMBRE SOLICITANTE : María Rivas Leguía

MUESTRAS : QUINUA

NOMBRE CIENTIFICO : *Chenopodium quinoa*

VARIEDAD : varias

ZONA DE PROCEDENCIA : varias

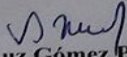
PESO RECIBIDO : Aprox. 20 gramos

ANÁLISIS SOLICITADO : Saponina


RESULTADOS:

CÓDIGO DE MUESTRA	% Saponina (1)	% Saponina (2)	% Saponina (3)	Promedio (%)
HUINCHUS 1	0.16	0.27	0.22	0.22
HUINCHUS 2	1.21	0.67	1.05	0.98
HUINCHUS 3 (blanca)	0.70	0.67	0.40	0.59
HUINCHUS 4	0.46	0.48	0.46	0.47
CAJABAMBA 1 (blanca)	0.40	0.38	0.54	0.44
CAJABAMBA 2 (amarilla)	1.58	1.39	1.45	1.47
CAJABAMBA 3 (negra)	0.00	0.00	0.00	0.00
PUNO 1 (roja)	1.58	1.71	1.53	1.61
PUNO 2 (blanca)	0.03	0.03	0.03	0.03
PUNO 3 (ploma)	0	0	0	0

Según Koziol (método afrosimétrico), puede considerarse como dulce la quinua que contiene saponinas al 0.11% o menos, y como amarga la que contiene saponinas por encima del 0.11%.



Dra. Luz Gómez Pando
Responsable del PIPS en Cereales y Granos Nativos- UNALM



Ing. Martha Ibañez Tremolada
Responsable del Laboratorio de Calidad del PIPS en Cereales y Granos Nativos – UNALM

ANEXO 7

PRUEBA ESTADÍSTICAS PREVIAS AL REALIZAR EL ANÁLISIS DE LOS DATOS RECOLECTADOS.

Pruebas de normalidad

Tratamiento	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	Gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
Halo d 100%	,198	36	,001	,890	36	,002
i 90%	,210	36	,000	,889	36	,002
m 80%	,334	36	,000	,790	36	,000
e 70%	,243	36	,000	,855	36	,000
n 60%	,284	36	,000	,782	36	,000
s Oxacilina	,482	36	,000	,509	36	,000
i						
o						
n						

a. Corrección de la significancia de Lilliefors

Con la prueba de Kolmogorov-Smirnov se contrasta la hipótesis de normalidad de los datos de los halos en sus diferentes concentraciones.

Prueba de homogeneidad de varianzas

Halo

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
8,773	5	210	,000

Con la prueba de Levene se contrasto la hipótesis de homogeneidad de varianzas, demostrándose que no existe homogeneidad de varianzas por lo cual adicionalmente se aplicó la prueba de kruskal wallis, evidenciándose que al igual

que en los resultados del ANOVA, indica que existe diferencia altamente significativa al aplicar los diferentes tratamientos o concentraciones.

PRUEBA NO PARAMÉTRICA: KRUSTALL WALLIS

Rangos					
	DILUCIONES %	N	Rango promedio		
PUNO ROJA S. aureus	100	36	156,83		
	90	36	132,17		
	80	36	89,13		PUNOROJA SAEREUS
	70	36	51,56	Ji cuadrado	164.010
	60	36	22,82	Gl	4
	Total	180		Sig. asintót.	.000

Se muestra los resultados del análisis de varianza no paramétrica krustall wallis, de la actividad antibacteriana (mm) en función a las variables extracto, concentración y bacteria.

	Halo
N	216
Mediana	7,0000
Ji-cuadrado	216,000 ^a
Gl	5
Sig. asintót.	0,000

a. 0 casillas (,0%) tienen frecuencias esperadas menores que 5. La frecuencia de casilla esperada mínima es 18,0.

b. Variable de agrupación: Tratamiento.

TABLA 4 Comparación de la eficacia antibacteriana del extracto de *Chenopodium quinoa* Willd, con sus diferentes diluciones sobre la cepa *Staphylococcus aureus* usando la prueba post hoc T3 de Dunnett.

Comparaciones múltiples: Halo T3 de Dunnett

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento		Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
dim ens ion 2	100% di me nsi on 3	90% Oxacilin	1,61111*	,26007	,000	,8211	2,4012
		80%	6,80556*	,24393	,000	6,0604	7,5507
		70%	9,05556*	,26907	,000	8,2397	9,8714
		60%	10,63889*	,25141	,000	9,8732	11,4046
			-36,44444*	,22925	,000	-37,1508	-35,7381
	90% di me nsi on 3	100% Oxacilin	-1,61111*	,26007	,000	-2,4012	-,8211
		80%	5,19444*	,18728	,000	4,6269	5,7620
		70%	7,44444*	,21902	,000	6,7817	8,1072
		60%	9,02778*	,19692	,000	8,4319	9,6237
			-38,05556*	,16772	,000	-38,5677	-37,5434
	80% di me nsi on 3	100% Oxacilin	-6,80556*	,24393	,000	-7,5507	-6,0604
		90%	-5,19444*	,18728	,000	-5,7620	-4,6269
		70%	2,25000*	,19959	,000	1,6442	2,8558
		60%	3,83333*	,17505	,000	3,3036	4,3631
			-43,25000*	,14141	,000	-43,6794	-42,8206
	70% di me nsi on 3	100% Oxacilin	-9,05556*	,26907	,000	-9,8714	-8,2397
		90%	-7,44444*	,21902	,000	-8,1072	-6,7817
		80%	-2,25000*	,19959	,000	-2,8558	-1,6442
		60%	1,58333*	,20866	,000	,9512	2,2154
			-45,50000*	,18136	,000	-46,0552	-44,9448
	60% di me nsi	100%	-10,63889*	,25141	,000	-11,4046	-9,8732
		90%	-9,02778*	,19692	,000	-9,6237	-8,4319
		80%	-3,83333*	,17505	,000	-4,3631	-3,3036
		70%	-1,58333*	,20866	,000	-2,2154	-,9512

a	on Oxacilin		-47,08333*	,15395	,000	-47,5521	-46,6146
	3						
	Oxacilin	di 100%	36,44444*	,22925	,000	35,7381	37,1508
		me 90%	38,05556*	,16772	,000	37,5434	38,5677
		nsi 80%	43,25000*	,14141	,000	42,8206	43,6794
		on 70%	45,50000*	,18136	,000	44,9448	46,0552
	3	60%	47,08333*	,15395	,000	46,6146	47,5521

ANEXO 08

TABLA 05. MÉTODO DE DIFUSIÓN EN AGAR (NORMAS CLSI – NCCLS) AÑO 2010. (39)

DEL MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA POR EL
MÉTODO DE DISCO DIFUSIÓN

Tabla 2. Antibióticos y Diámetros Críticos para *Staphylococcus* spp.

ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DEL DISCO	DIAMETRO EN mm		
		R	I	S
PENICILINAS				
Penicilina	10 unidades	≤ 28	-	≥ 29
Oxacilina (S. Aureus)	1 µg	≤ 10	11-12	≥ 13
(Estafilococos coagulasa negativos)	1 µg	≤ 17	-	≥ 18
GLICOPEPTIDOS				
Vancomicina	30 µg	-	-	≥ 15
Teicoplanina	30 µg	≤ 10	11-13	≥ 14
AMINOGLUCOSIDOS				
Gentamicina	10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15
FLUOROQUINOLONAS				
Norfloxacin	10 µg	≤ 12	13-16	≥ 17
Ciprofloxacina	5 µg	≤ 15	16-20	≥ 21
TETRACICLINA				
Tetraciclina	30 µg	≤ 14	15-18	≥ 19
MACROLIDOS				
Eritromicina	15 µg	≤ 13	14-22	≥ 23
LINCOSAMIDAS				
Clindamicina	2 µg	≤ 14	15-20	≥ 21
OTROS				
Cloramfenicol	30 µg	≤ 12	13-17	≥ 18
Rifampicina	5 µg	≤ 16	17-19	≥ 20
Nitrofurantoina	300 µg	≤ 14	15-16	≥ 17
Trimetoprim/sulfametoxazol	1.25/23.75µg	≤ 10	11-15	≥ 16

ANEXO 9

ESTUDIO BASICO EXPERIMENTAL REALIZADO IN VITRO POR EL AUTOR (Fotos de evidencia ejecutada).



SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS DE *Chenopodium Quinoa willd*
LA SELECCIONADA ES LA QUINUA REAL TOLEDO ROJO



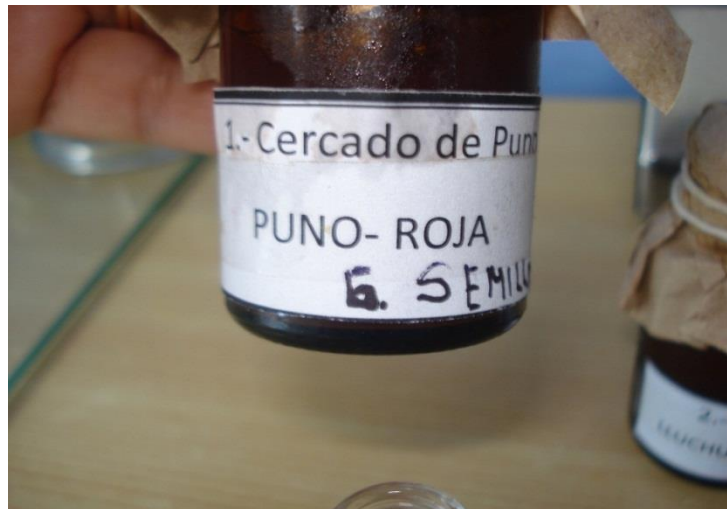
LAS 4 MUESTRAS CON MAYOR % EN SAPONINAS
SELECCIONADA LA MUESTRA 01 PARA EL PRESENTE ESTUDIO.
Chenopodium quinoa willd de Puno color rojo, del Sur del Perú.



EXTRACTO EN ROTA VAPOR



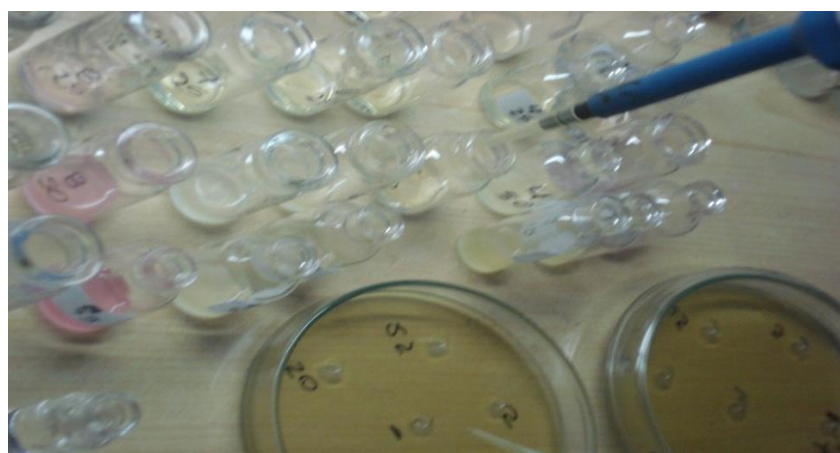
EXTRACTO EN FASE DE BAÑO MARIA



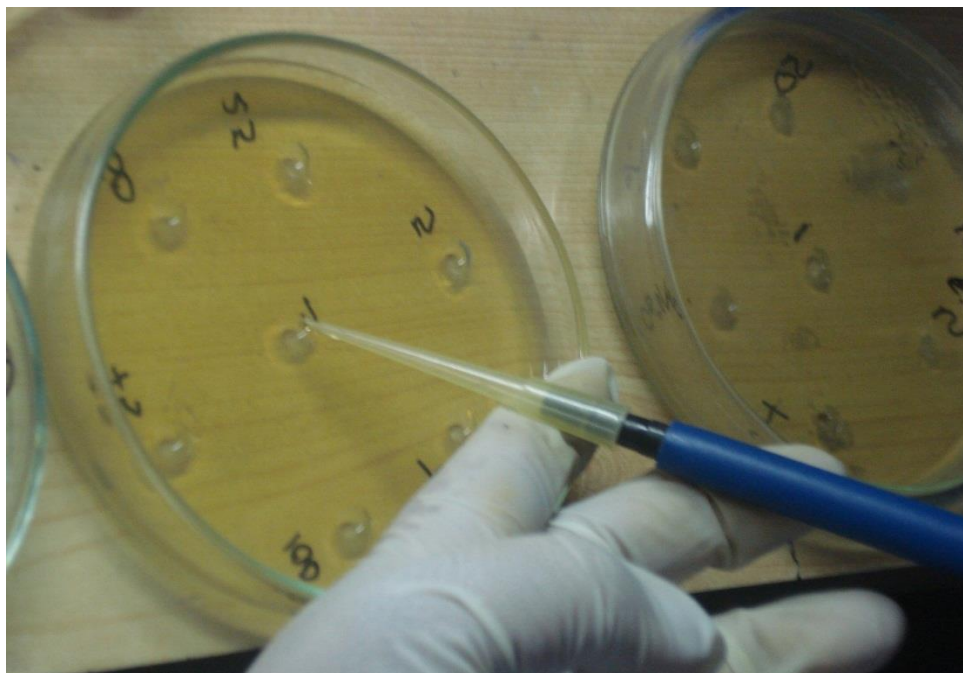
EXTRACTO PURO EN REFRIGERACION LISTO PARA USAR -4°C



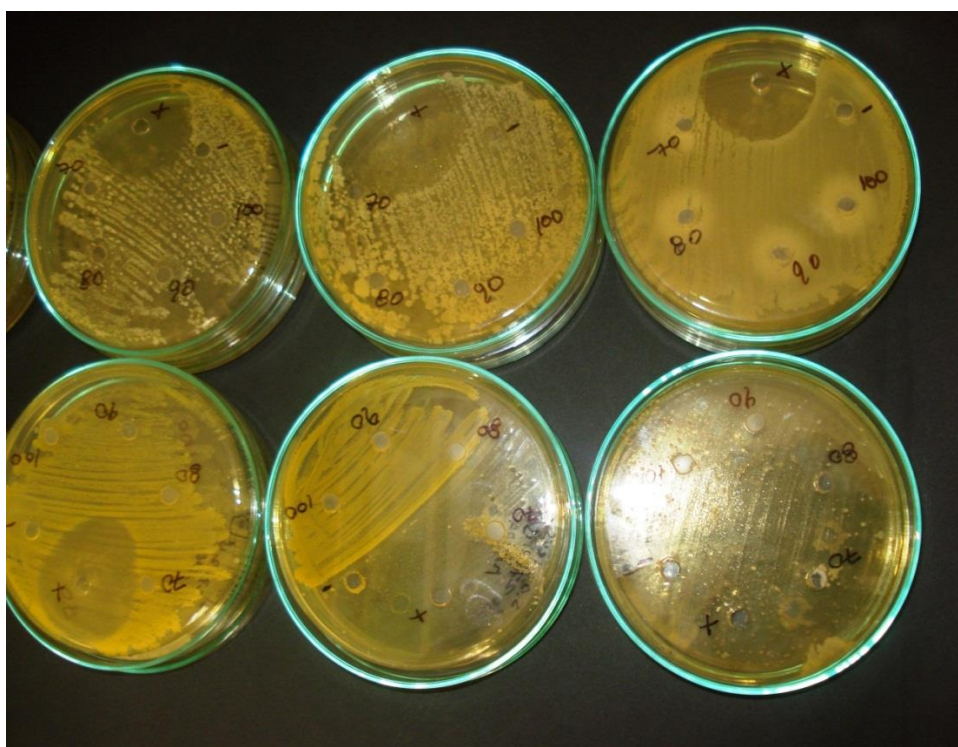
PATRON OXACILINA Y PATRON SUERO FISIOLOGICO



DILUCION DEL EXTRACTO

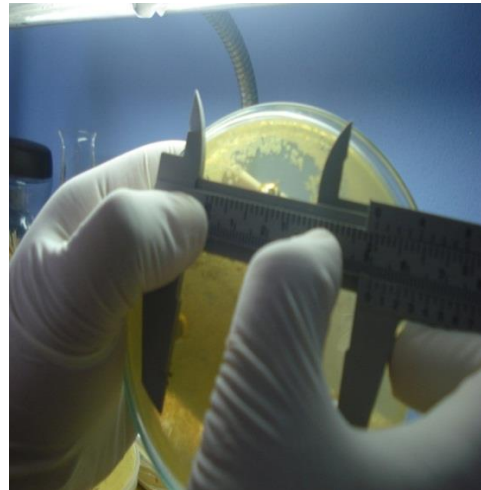


SUSPENSIÓN DE LAS DILUCIONES, PATRON (+) Y (-) EN CADA POZO
DE LA PLACA PETRI PREVIAMENTE SEMBRADA LA BACTERIA.





REGLA DE VERNIER USADO EN EL ESTUDIO



MEDICION DE LOS HALOS DE INHIBICION EN CADA PLACA PETRI CON LA REGLA DE VERNIER

